

УДК 616.24-002 : 612.017.74

© Л. Ф. Притуло, Т. Г. Филоненко, 2011.

МАКРОФАГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ – КАК РАННИЙ ПРИЗНАК СЕПТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ПЕРИТОНИТОМ

Л. Ф. Притуло, Т. Г. Филоненко

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского», г.Симферополь.

MACROPHAGE ACTIVITY – AS AN EARLY SIGN OF THE SEPTIC PROCESS FOR CHILDREN WITH ACUTE PERITONITIS

L. F. Pritulo, T. G. Filonenko

SUMMARY

Peritonitis is one of the most threatening complications of acute inflammatory diseases of children, which in same order is often complicated by a sepsis. An important role in development of septic complications is suppressing of macrophage activity, that can reduce adequacy of system inflammatory response. The analysis of histological preparations showed of increasing of inflammatory-destructive changes in the wall of r appendix and mesentery, disturbances of blood circulation and decline of macrophage activity. Decline of CD68 expression to 30% can be a threshold value for diagnostics of SIRS and can be used to testify of absence of adequate system inflammatory answer. Decreasing of CD68 expression of patients with septic shock to 8% testifies to the acute suppressing of macrophage activity, that undoubtedly requires application of adequate therapy, that can enhance cellular immunity.

МАКРОФАГАЛЬНА АКТИВНІСТЬ – ЯК РАННЯ ОЗНАКА СЕПТИЧНОГО ПРОЦЕСУ У ДІТЕЙ НА ГОСТРИЙ ПЕРИТОНІТ

Л. Ф. Притуло, Т. Г. Філоненко

РЕЗЮМЕ

Розлитий перитоніт є одним з найбільш важких ускладнень гострих запальних захворювань у дітей, який у свою чергу часто ускладнюється сепсисом. Важливу роль в розвитку септичних ускладнень має місце пригнічення макрофагальної активності, що різко знижує адекватність системної запальної відповіді. Аналіз гістологічних препаратів показав поступово наростаючі запально-деструктивні зміни в стінці червоподібного відростка і брижі, порушення кровообігу і зниження макрофагальної активності. Зниження експресії CD68 до 30% може бути пороговим значенням для діагностики ССЗВ, що свідчить про відсутність адекватної системної запальної відповіді. Різке зниження експресії CD68 у хворих на септичний шок до 8% свідчить про різке пригнічення фагоцитарної активності макрофагів, що поза сумнівом вимагає застосування адекватно підібраної терапії, що підвищує клітинний імунітет.

Ключевые слова: перитонит, сепсис, макрофаги, дети.

Вряд ли в хирургии можно выделить проблему более древнюю и более актуальную, чем проблема перитонита. Научно-технический прогресс, достижения в области хирургии, к сожалению, еще не разрешили ее. Разлитой перитонит является одним из наиболее грозных осложнений острых воспалительных заболеваний. Летальность при перитоните остается высокой. По данным различных авторов, она составляет от 18,3 до 62,8%. Наиболее часто основным этиологическим фактором является аппендикулярный перитонит с наличием грамотрицательной флоры, который сопровождается деструкцией и часто осложняется сепсисом [1, 8, 10].

Диагностика сепсиса представляет определенные трудности и иногда бывает несвоевременной, что значительно ухудшает результаты лечения, следовательно, исход заболевания. Не может быть благополучного исхода заболевания, если диагноз поставлен несвоевременно. Поэтому, уделяя должное внима-

ние ранней диагностике сепсиса, необходимо выделить ранние критерии трансформации ССВО в сепсис. Одним из таких патогномичных признаков может являться установление морфологических признаков, характерных для стадии ССВО и сепсиса. Известно, что немаловажную роль в развитии септических осложнений имеет место угнетение макрофагальной активности, что резко снижает адекватность системного воспалительного ответа [11, 12, 13, 14].

Целью работы явилось установление прогностических критериев раннего сепсиса на основе изучения морфологических особенностей и макрофагальной активности при остром перитоните у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленных задач использовали комплекс морфологических и иммуногистохимических исследований. Гистологическое исследование аппендикса и брыжейки проводили в 46 случаях ап-

пендектомий с наличием грамотрицательной флоры. Клинически у 11 больных с местной формой перитонита определялся ССВО, у 11 детей – септическая инфекция (3 больных с местной формой и 8 больных с диффузной формой перитонита, у 12 детей (9 детей с диффузной и 3 детей с разлитой формами перитонита – сепсис и у 7 детей с фибринозно-гнойным разлитым перитонитом - септический шок. В качестве контроля исследовали червеобразные отростки у 5 больных с флегмонозным аппендицитом без клинических признаков перитонита и ССВО. Гистологическое исследование проводили по стандартной методике с окраской срезов гематоксилином и эозином [6]. С помощью иммуногистохимического метода исследования исследовали макрофагальную активность ткани легкого у больных острым деструктивным перитонитом. Иммуногистохимическое исследование ткани аппендикса проводили по стандартизированной методике с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 5 мкм, помещенных на

адгезивные стекла, покрытые полизином («Menzel-Glaser», Германия) и реактивов компании DAKO с моноклональными антителами CD68 (Clone KP1) на автостейнере DAKO. Использовали систему визуализации LSAB2/EnVision производителя DakoCytomation (Дания) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании флегмонозно измененного червеобразного отростка у 11 детей с местной формой перитонита и признаками ССВО отмечалось хорошо заметное утолщение его стенки, нечеткая дифференцировка слоев с их выраженной лейкоцитарной инфильтрацией.

На слизистой оболочке видны эрозии и острые язвы. Под серозной оболочкой визуализируются множественные мелкие сосуды обтурированные лейкоцитами, что можно расценить как пусковой механизм для гематогенного распространения воспалительной инфильтрации в окружающие ткани (рис. 1).

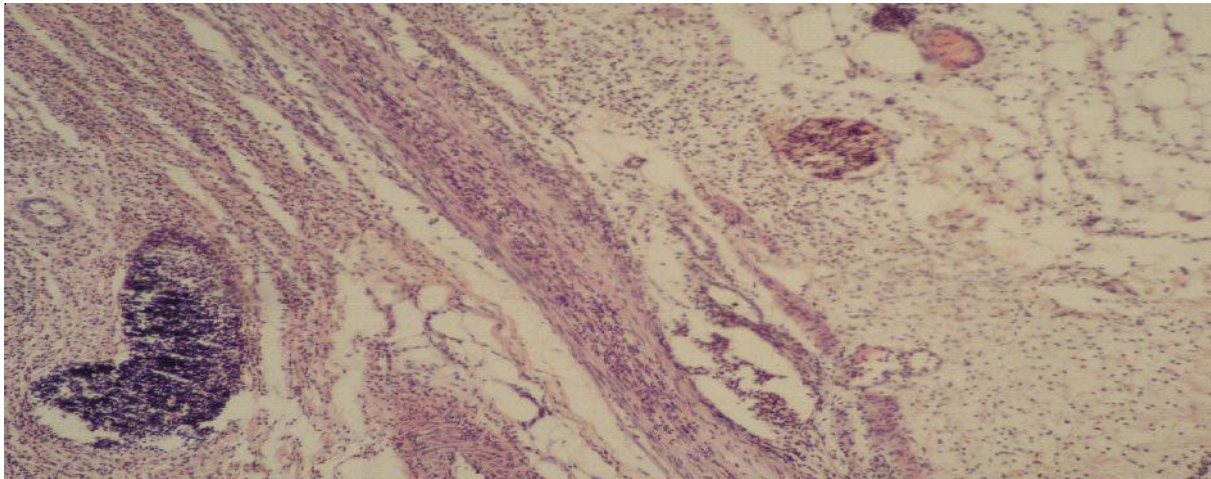


Рис. 1. ОДП. Лейкоцитарная инфильтрация и лейкостаз мелких сосудов стенки червеобразного отростка с переходом на брыжейку. Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х200.

Кроме того, наблюдались выраженные признаки нарушения кровообращения в виде полнокровия сосудов разного калибра, явлений стаза и сладжа, очаговой периваскулярной геморрагической инфильтрацией. Стенки сосудов при этом набухшие с наличием фибриноидного набухания. При ИГХ

исследовании с моноклональными антителами CD68 отмечалось умеренное количество позитивных клеток (30%) по сравнению с группой контроля (50%), что свидетельствует о снижении макрофагальной активности (табл. 1).

Таблица 1

Экспрессия CD68+ макрофагов в стенке червеобразного отростка больных перитонитом (%)

Локализация	Контроль n=5	ССВО n=11	Септическая инфекция, сепсис n=23	Септический шок n=7
В стенке отростка	50,8±2,4	29,9±1,5*#	14,7±0,8*#	8,1±1,1*#

Примечание: * – P<0,01, достоверность отличия показателей контрольной группы от исследуемых;
– P<0,01, достоверность отличия между показателями исследуемых групп.

При септической инфекции и сепсисе, которая наблюдалась у 23 больных детей с гангренозной формой аппендицита и признаками диффузного и разлитого перитонита, гистологическое исследование червеобразных отростков позволило выявить основные морфологические признаки, отображающие в первую очередь нарастание воспалительно-деструктивных процессов и гемодинамических расстройств.

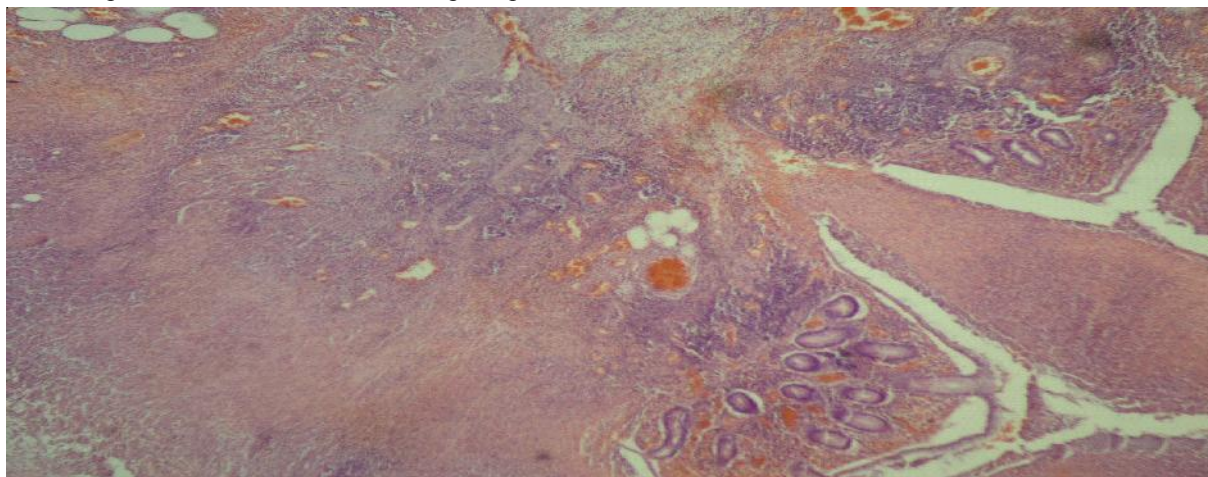


Рис.2. ОДП. Лейкоцитарная инфильтрация с некрозом стенки отростка (перфорация). Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х200.

В расширенных сосудах визуализировались полнокровие, стаз, сладж, фибриновые тромбы. Имела место более обширная геморрагическая инфильтрация в периваскулярной зоне.

Обращало внимание наличие лейкоцитарных тромбов и колоний бактерий, что свидетельствует о метастатическом распространении септической инфекции (рис.3). При ИГХ исследовании экспрессия CD68 наблюдалась в малом количестве (15%) и рассценивалась как низкая макрофагальная активность по сравнению с группой контроля, что свидетельствовало о снижении способности фагоцитоза и утили-

При этом обнаруживались очаги некроза стенки аппендикулярного отростка, распространяющиеся вплоть до серозной оболочки с явлениями перфорации.

На серозной оболочке, в брыжейке отмечали распространение воспалительного инфильтрата, представленного густоклеточной диффузной лейкоцитарной инфильтрацией (рис.2).

зации некротического детрита и микроорганизмов (табл.1). Гистологическое исследование червеобразных отростков у 7 больных с септическим шоком обнаружило наиболее выраженные воспалительно-деструктивные процессы и резко выраженные признаки нарушения кровообращения.

Очаги некроза в стенке отростка занимали большую площадь. Слоя стенки отростка не различаются. На серозной оболочке диффузная лейкоцитарная инфильтрация, фибрин. В брыжейке множественные острые абсцессы, обширные участки кровоизлияний (рис.4).

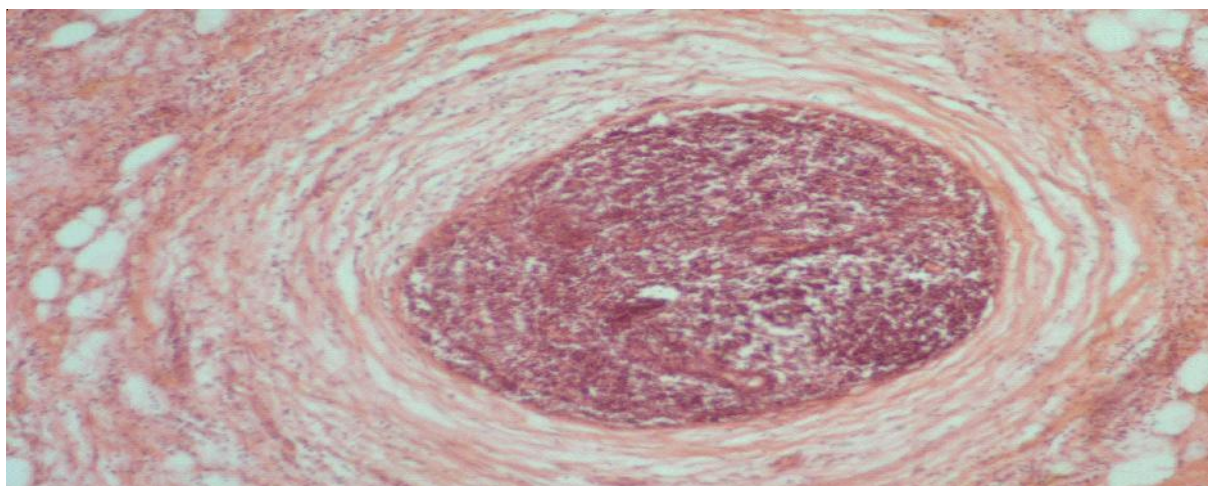


Рис.3. ОДП. Лейкоцитарный тромб с колониями бактерий в брыжейке червеобразного отростка. Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х400.

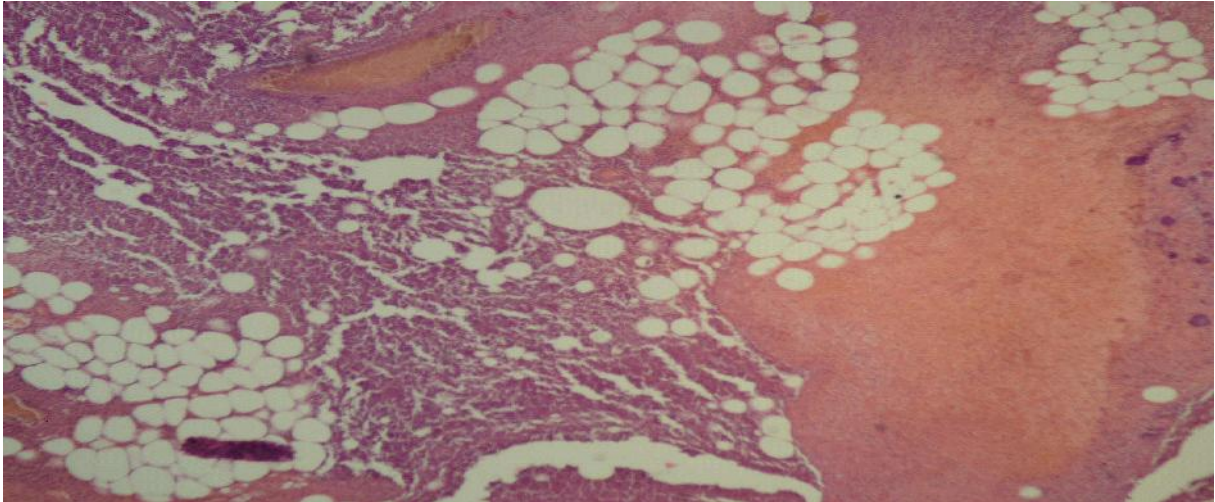


Рис.4. ОДП. Кровоизлияние, формирование абсцессов. Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х400

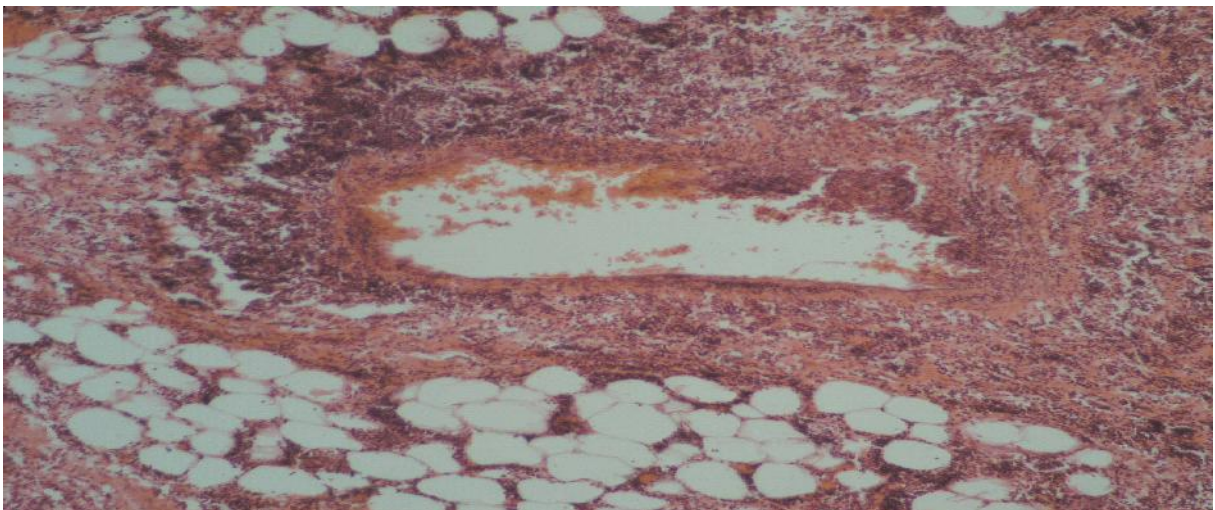


Рис.5. ОДП. Некроз стенки сосуда с геморрагической и лейкоцитарной инфильтрацией. Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х400.

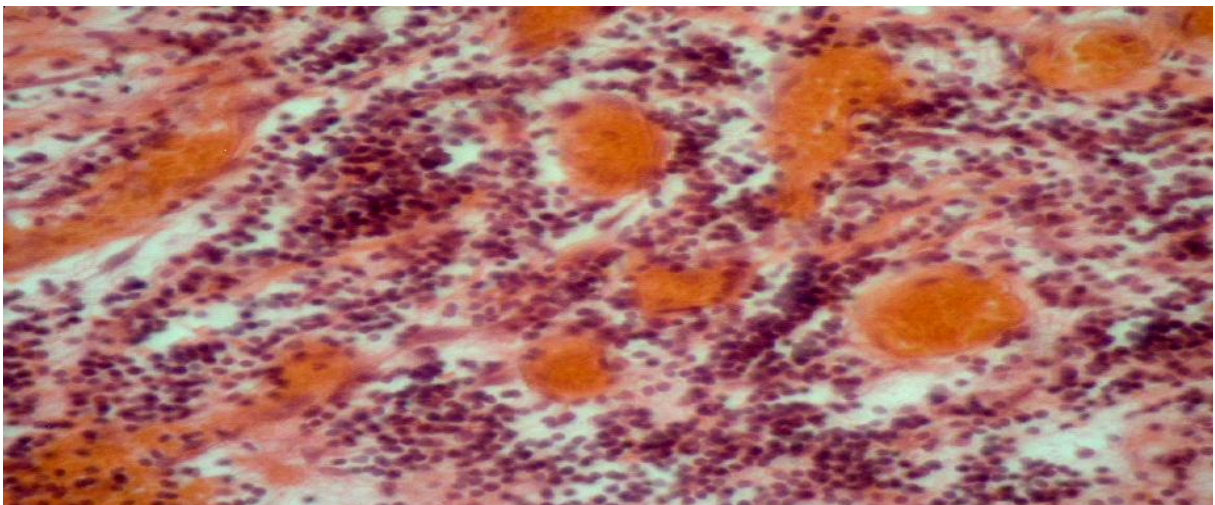


Рис.6. ОДП. Фибриновые тромбы и лейкоцитарная инфильтрация в брыжейке. Окраска Гематоксилин и эозин. Ув.х400.

Стенка сосудов отечна с фибриноидным некрозом вплоть до ее деструкции (рис.5). Повсеместно отмечались стаз, сладж, фибриновые тромбы с кровоизлияниями (рис.6).

При ИГХ исследовании с CD68 позитивные клетки отмечались в небольшом количестве (8%), что свидетельствует о резком угнетении фагоцитоза (табл.1).

Анализ гистологических препаратов показал постепенно нарастающие воспалительно-деструктивные признаки и расстройства кровообращения. Следует отметить, что у больных с наличием ССВО можно выделить основные гемодинамические нарушения: полнокровие, стаз, сладж, кровоизлияния. Но такие изменения со стороны сосудистого русла отмечают и другие исследователи [1, 2, 4, 5, 7].

В общем то перечисленные признаки являются определенными канонами в диагностике воспалительного процесса и являются одним из его механизмов [3, 10]. Настораживает наличие сладж-феномена и кровоизлияний, которые могут являться как бы пограничным морфологическим признаком при развитии неадекватного ССВО. Также можно отметить и наличие множественных лейкостазов в сосудах, которые могут являться пусковым механизмом для гематогенного распространения инфекции и развития септического процесса. Тем более что исследования проводились у больных с деструктивными гнойными процессами. А этот факт также настораживает в плане развития и прогрессирования сепсиса.

Имеет значение и этиологический фактор – грамотрицательная микрофлора, которая высевалась в патологических очагах и в случаях сепсиса в гемокультуре. В наших исследованиях наиболее выраженные гемодинамические расстройства отмечались именно у больных, у которых высевалась грамотрицательная флора и проявлялись в первую очередь дистрофическими и некротическими изменениями обусловленные токсическим действием микробных эндотоксинов.

В связи с этим происходит угнетение микроциркуляции, ведущее к выраженной гипоксии в организме. У больных перитонитом с клиническими признаками ССВО экспрессия CD68 отмечалась умеренное количество позитивных клеток (30%) по сравнению с группой контроля (50%), что свидетельствует о снижении макрофагальной активности и угнетении фагоцитоза, и может являться ранним диагностическим признаком развития септической инфекции. Макрофагальная активность снижалась и у больных с сепсисом (15%) и септическим шоком (8%).

ВЫВОДЫ

Постепенно нарастающие воспалительно-деструктивные изменения в стенке червеобразного отростка и брыжейке, нарушения кровообращения и снижение макрофагальной активности позволяет судить о постепенно развивающихся патологических процессах, соответствующих тяжести состояния и

развития сепсиса.

Снижение экспрессии CD68 до 30% может являться пороговым значением для диагностики ССВО и свидетельствовать об отсутствии адекватного системного воспалительного ответа.

Резкое снижение экспрессии CD68 у больных с септическим шоком до 8% свидетельствует о резком угнетении фагоцитарной активности макрофагов, что, несомненно, требует применения адекватно подобранной терапии, повышающей клеточный иммунитет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочоришвили В.Г. Новая иммунологическая концепция сепсиса и ее иммунологическое значение / В.Г. Бочоришвили, Т.В. Бочоришвили/ *Int.j. Immunorehabilitation.* –1997. – №6. –С.20–26.
2. Женчевский Р.А. Патофизиология воспаления/ Р.А. Женчевский/ –Ставрополь, 1978. – С.39–40.
3. Иммунный статус при перитоните и пути его патогенетической коррекции / Ю.М. Гаин, С.И. Леонович, Н.В. Завада и др. –Мн.: ООО «Юнипресс», 2001. – 256 с.
4. Костюченко К.В. Возможности хирургического лечения распространенного перитонита / К.В. Костюченко// *Вестник хирургии.* –2004. – Т. 163, № 3. – С. 4–13.
5. Прогнозирование послеоперационного спайкообразования в брюшной полости у детей при исследовании морфологии перитонеального экссудата / Н. Шатохина, В.В. Бирюков, Л.В. Рубанова, И.В. Бурков и др. // *Детская хирургия.* – 2004. – № 2. – 19–22.
6. Сапожников А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич/ – Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
7. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика: Практическое руководство / Председатель ред. совета В.С. Савельев. - М.: Изд-во НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2004. – 130 с.
8. Юдин Я.Б. Острый аппендицит у детей / Я.Б. Юдин, Ю.Д. Прокопенко, К.К.Федоров, Т.А. Габинская/ М.: Медицина, 1998. – 256 с.
9. Dabbs D. J. *Diagnostic immunohistochemistry.* – Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
10. Beutler B. Sepsis begins at the interface of pathogen and host. *Biochem Soc. Trans*, 2001. – № 29. – P.853–859.
11. Goldstein B. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics/ B. Goldstein, B. Giroir, A. Randolph et al. / *Pediatr. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 6. – P.2–8.
12. Martin T.R. Recognition of bacterial endotoxin in the lungs/ *Am. J. Respir Cell Mol. Biol.*, 2000. – №23. – P.128–132.
13. van Furth R. Origin and turnover of monocytes and macrophages/ *Curr. Top. Pathol.*, 1989. – №79. – P. 125–150.
14. Schumann R.R. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein / R.R. Schumann, S.R. Leong, G.W. Flaggs, et al. / *Science*, 1990. – № 249. – P.1429–1431.