

Морозов Д.А.¹, Городков С.Ю.², Швиденко И.Г.², Филиппов Ю.В.², Ключев С.А.²

ПОКАЗАТЕЛИ ФАГОЦИТОЗА ПРИ ДИССЕМИНИРОВАННОМ ПОСТСПЛЕНЭКТОМИЧЕСКОМ СПЛЕНОЗЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России, Москва; ²ГБОУ ВПО "Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России", 410012, Саратов

Ключев Сергей Александрович (Klyuev Sergey Aleksandrovich), sergey1klyuev@yandex.ru

Авторами разработана экспериментальная модель развития диссеминированного постспленэктомического спленоза (ДПС), позволяющая оценить его влияние на фагоцитоз периферических лейкоцитов крови. В ходе эксперимента выделено 5 групп животных: контрольная, группы аспленированных животных на 30-й и 100-й дни после операции и животные с моделированным ДПС через 30 и 100 дней после операции. По результатам исследования можно заключить, что наличие очагов спленоза способствует поддержанию фагоцитарных показателей уже на 30-й день после операции, в то время как в раннем послеоперационном периоде после спленэктомии отмечается выраженная депрессия фагоцитоза.

Ключевые слова: травма селезенки; диссеминированный постспленэктомический спленоз; спленэктомия; фагоцитарные показатели.

Morozov D.A., Gorodkov S.Yu., Shvidenko I.G., Filippov Yu.V., Klyuev S.A.

PHAGOCYtic INDICES IN DISSEMINATED POST-SPLENECTOMY SPLENOSIS IN EXPERIMENT

Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery, Russian Ministry of Health, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Russian Ministry of Health

An experimental model of evolution of disseminated post-splenectomy splenosis (DPS) was developed to estimate its influence on phagocytosis of peripheral blood leukocytes. The study included 5 groups of animals: controls, asplenic animals on days 30 and 100 after surgery, model animals on days 30 and 100 after surgery. The data obtained suggest the presence of splenosis-affected areas maintaining phagocytic indices on day 30 after surgery in contrast to the early postoperative period when phagocytosis is markedly suppressed.

Key words: splenic injury, disseminated post-splenectomy splenosis, splenectomy, phagocytic indices

Вопрос последствий спленэктомии постоянно обсуждается в периодической медицинской литературе, однако единого подхода к лечению травм селезенки нет. Последние данные исследований физиологической роли селезенки диктуют необходимость органосохраняющего ведения детей с травматическими повреждениями селезенки. На настоящий момент "золотым стандартом" является консервативное лечение любых повреждений селезенки со стабильной гемодинамикой. При наличии возможности полноценного мониторинга консервативное лечение проводится более чем в 90% случаев [1, 2]. Однако и в настоящее время прибегают к спленэктомии из-за отсутствия возможности качественного инструментально-лабораторного контроля таких пациентов [3]. По обобщенным результатам Российского симпозиума детских хирургов 2008 г. (Екатеринбург) "Травматические внутриполостные кровотечения у детей", спленэктомию проводят в среднем в 27,3% случаев повреждений селезенки [4].

В последние годы в литературе утвердилось мнение о том, что главная функция селезенки заключается в клиренсе бактерий и другого чужеродного антигенного материала из крови. Существует большое количество работ, свидетельствующих о развитии выраженных нарушений этапов фагоцитоза после спленэктомии [5, 6]. Страдают как свободно циркулирующие, так и тканевые макрофаги, нарушается интеграция всей системы мононуклеарных фагоцитов. Система мононуклеарных фагоцитов является наиболее древней, определяющей ветвью иммунитета, поэтому такая дисфункция быстро приводит к разви-

тию OPSI (overwhelming postsplenectomy infection) — непреодолимой постспленэктомической инфекции, молниеносного сепсиса.

В мировой литературе часто описывают клинические случаи развившегося диссеминированного постспленэктомического спленоза (ДПС) — так называемой спонтанной посттравматической имплантации селезеночной ткани в виде очагов. Частота развития его у взрослых людей, перенесших спленэктомию без аутотрансплантации, составляет 67—80% [7].

Некоторые авторы считают, что для восполнения функций селезеночной ткани необходимо сохранение более 25—30% ее количества [8], чего, как правило, не бывает при ДПС. В то же время есть данные, что сохранение даже незначительной части органа препятствует возникновению постспленэктомического синдрома, и это более актуально для детского организма [9]. Также существуют зарубежные исследования, доказывающие состоятельность остаточной селезеночной ткани меньшего объема [10, 11]. На наш взгляд, вопрос о функциональной полноценности очагов спленоза является дискуссионным [7] и требует дальнейшего изучения.

Цель работы — изучить влияние регенерированных очагов спленоза на фагоцитарные показатели лейкоцитов крови.

Материалы и методы

Для изучения функциональных возможностей очагов ДПС использовали 30 белых крыс-самок Вистар в возрасте 3 мес, массой 150—200 г. Выделено 5 групп животных: 1-я ($n = 6$) — контрольная, для оценки показателей в нор-

ме; 2-я ($n = 6$) — группа аспленированных животных на 30-й день после операции; 3-я ($n = 6$) — группа животных через 100 дней после удаления селезенки; 4-я ($n = 6$) — животные через 30 дней после моделирования ДПС; 5-я ($n = 6$) — через 100 дней после моделирования ДПС. ДПС моделировали по разработанной методике (патент РФ "Способ моделирования диссеминированного постспленэктомического спленоза" № 2481645): всем крысам выполняли разрез в левом подреберье длиной 1 см, селезенку выводили в рану и после лигирования ее сосудов отсекали. В чашке Петри на удаленной селезенке выполняли несколько глубоких разрезов скальпелем и выделившуюся кровь, без явных элементов ткани, вводили в свободную брюшную полость. Таким образом, условия для роста "неоселезеночной" ткани оказывались наиболее приближенными к имеющим место при травме селезенки у человека. У всех групп крыс оценивали фагоцитарные показатели лейкоцитов крови (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, опсонический индекс, размеры фагоцитов). Для этого из суточной агаровой культуры стандартного музейного штамма *E. coli* в соответствии со стандартом Мак-Фарланда готовили бактериальную взвесь в концентрации 1 млрд/мл, которую добавляли к нативной крови экспериментальных животных в соотношении 1:1. Далее проводили инкубацию полученной взвеси при температуре 37°C в термостате в течение 1 ч, после чего на предметном стекле ее смешивали со стерильным физиологическим раствором в соотношении 1:1. Подсохшие стекла фиксировали и окрашивали растворами Лейкодиф 200. Микропрепараты оценивались с помощью микровизора "Ломо". Очаги спленоза взвешивали на лабораторных электронных весах ВСТ-600/10.

Статистическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Excel 2010 и StatSoft Statistica 6.0 for Windows. Рассчитывали средние значения изучаемых показателей и стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Фагоцитарный индекс — отношение количества вступивших в фагоцитоз лейкоцитов к общему их числу, нормальные значения 75—95%. Данный индекс, показывающий процент активных фагоцитов, в группе крыс со спленозом уже на 30-й день был в норме (86%), тогда как при аспленизации в эти сроки показатель не достигал нормальных значений (68%). Через 100 дней после оперативных вмешательств показатель в обеих сравниваемых группах соответствовал норме (рис. 1).

Фагоцитарное число — отношение количества поглощенных микробов к числу лейкоцитов, вступивших в фагоцитоз (в норме 5—10). В среднем число бактерий внутри фагоцита в группе на 30-й день после моделирования ДПС было нормальным — 6 бактерий, а через 30 дней после аспленизации составило 4 (рис. 2). К 100-му дню в обеих группах показатели почти выравнивались (рис. 3).

Опсонический индекс, определяемый как отношение фагоцитарного числа экспериментальных групп к фагоцитарному числу контрольной, указывает на степень гуморальной атаки бактериальной клетки, способствующей дальнейшему фагоцитозу. В норме составляет более 90%. Отмечено, что в группах со спленозом и через 100 дней после аспленизации опсонический индекс имел нормальные значения, тогда как в ранние сроки после спленэктомии был ниже нормы (рис. 4).

Размер фагоцитов косвенно указывает на степень их хемотаксиса. Наибольшие средние значения в экспериментальных группах были у крыс со спленозом

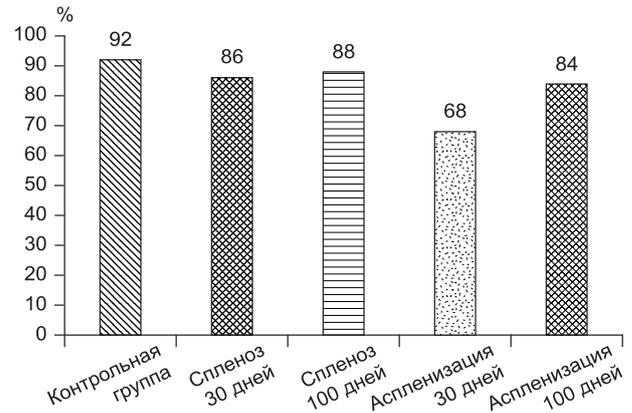


Рис. 1. Фагоцитарный индекс в контрольной и экспериментальной группах животных.

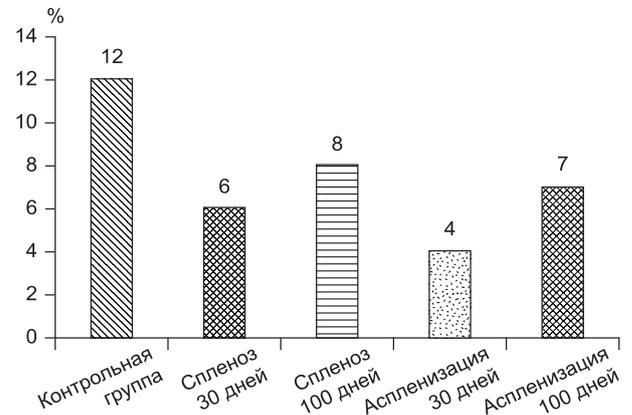


Рис. 2. Фагоцитарное число в контрольной и экспериментальной группах животных.

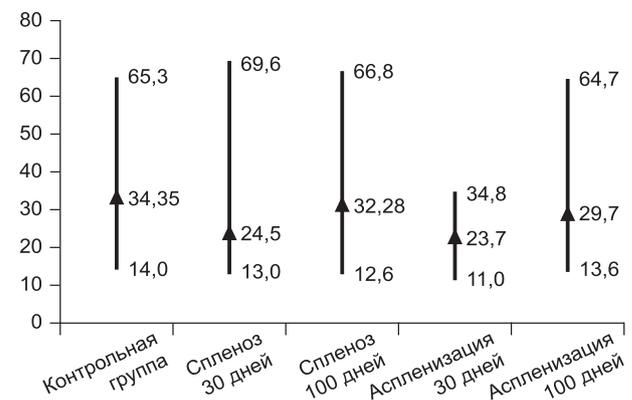


Рис. 3. Коридоры размеров фагоцитов и их моды, мкм.

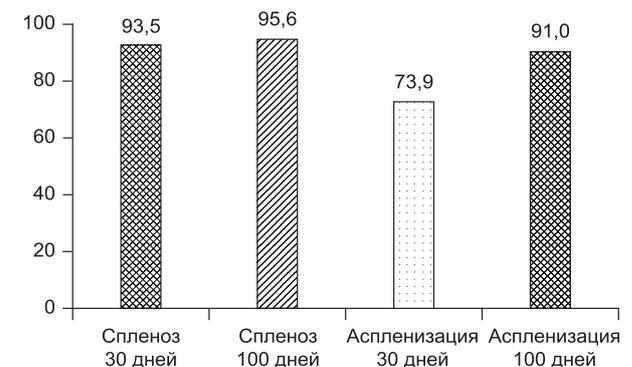


Рис. 4. Опсонический индекс в экспериментальной группе.

на 100-й день после операции, наименьший интервал размеров отмечался у аспленированных животных в раннем послеоперационном периоде (рис. 5 на вклейке). На микропрепаратах отчетливо видны фагоциты, ответившие на антигенный стимул (в контрольной группе и группах со спленозом) и неактивные клетки животных после спленэктомии (рис. 6, 7 на вклейке).

Средние значения массы всех очагов ДПС у одной крысы на 30-й день после операции составили 11% от средней массы селезенки крысы этого возраста и пола, и 16% на 100-й день после операции. Такое количество сохраненной селезеночной ткани обеспечивало нормальные значения фагоцитарных показателей в группах со спленозом.

Заключение

Наличие очагов спленоза способствует поддержанию фагоцитарных показателей уже на 30-й день после операции, в то время как в раннем послеоперационном периоде после спленэктомии отмечается выраженная депрессия фагоцитоза. Фагоцитарная недостаточность после спленэктомии является транзиторной — через 100 дней после спленэктомии фагоцитарные показатели близки к норме. Однако по литературным сведениям, большая вероятность развития OPSI приходится на первые 6 нед после операции [12].

Полученные данные говорят о сохранении способности очагов спленоза к синтезу опсонизирующих факторов иммунитета (тафтсина и др.), что имеет большое значение, поскольку "не нагруженная" опсонинами бактерия поглощается фагоцитами с большими затратами энергии и может быть вовсе не поглощена.

Имея в виду фагоцитарную дисфункцию, становится очевидно, что отсутствие участия макрофагов в индуктивной фазе иммунного ответа является основополагающим для развития OPSI-синдрома. Считается, что наиболее частыми возбудителями молниеносного постспленэктомического сепсиса являются *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* — комменсалы дыхательных путей. Как правило, первичным очагом такого сепсиса и являются легкие. На наш взгляд, частично это связано с потерей контроля альвеолярных и других тканевых макрофагов над условно-патогенной флорой. Естественные иммунные барьеры ослабевают, и степень транзиторной бактериемии увеличивается. Поскольку именно периферические иммунные органы играют роль фильтра микроорганизмов, а селезенка является самым крупным из них, возникает фагоцитарная недостаточность, на фоне которой остановить системную воспалительную инфекцию очень сложно. Безусловно, фагоцитарная дисфункция является лишь составной частью иммунных нарушений при аспленизации.

Исходя из этого, можно полагать, что в случаях невозможности сохранения аутотрансплантация является методом выбора и в клинических случаях находок очагов ДПС желательнее их сохранение. Главной задачей для исследователей и практических хирургов в настоящее время является минимизация объема некроза трансплантата и сохранение пространственной структуры селезеночной ткани с присущей ей перфузией.

Очень важно понимать, что даже если "неоселезеночная" ткань не выполняет фильтрующей функции селезенки, имеет место поддержка гуморального звена иммунитета в виде продукции антител, опсонизирующих факторов, интерферонов и т. д. Таким образом, очаги спленоза, даже в объеме 10—15% сохраненной ткани, имеют значение для поддержания иммунного гомеостаза организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Травматические внутриполостные кровотечения у детей. Реаниматологические и хирургические аспекты. *Материалы Российского симпозиума детских хирургов*. 22 апреля 2008 г. Екатеринбург: УГМА; 2008.
2. Комиссаров И.А., Филиппов Д.В., Ялфимов А.Н., Денисов А.А. Консервативное лечение закрытых повреждений селезенки у детей. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. 2010; 2: 79—80.
3. Апарцин К.А., Гумеров Р.Р., Галеев Ю.М. и др. Диссеминированный спленоз после спленэктомии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2009; 10: 53—5.
4. Marques R.G. I, Petroianu Y. II, Coelho J.M.C. de O. II. Bacterial phagocytosis by macrophage of autogenous splenic implant. *Braz. J. Biol.* 2003; 63 (3):
5. Григович И.Н., Дербенев В.В., Леухин М.В. и др. Разумный консерватизм в неотложной детской хирургии. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. 2011; 4: 16—9.
6. Martin L.W. Autologous splenic transplantation. *Ann. Surg.* 1994; 219 (3): 223—4.
7. Катко В.А., Аверин В. И., Свирский А.А. В кн: *Диагностика и лечение закрытых повреждений селезенки у детей*. Минск: БГМУ; 2009.
8. Подкаменев В.В., Пикало И.А., Михалов Н.И., Иванов В.О. Отдаленные результаты консервативного лечения травм селезенки с внутрибрюшным кровотечением у детей. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. 2011; 4: 50—5.
9. Nielsen J.L., Sakso P., Sorensen F.H., Hansen H.H. Demonstration of splenic functions following splenectomy and autologous spleen implantation. *Acta Chir. Scand.* 1984; 150 (4): 469—73.
10. Свирский А.А. Лечение изолированных повреждений селезенки у детей. В кн.: *Проблемы детской хирургии нового века: Материалы Международной научно-практической конференции*. Гродно; 2001: 51—4.
11. Petroianu A., Simal C.J.R., Barbosa A.J.A. Assessment of phagocytic function in remnants of subtotal splenectomy and in autologous spleen implantation. *Med. Sci. Res.* 1993; 21 (10): 715—7.
12. Singer D.B. Postsplenectomy sepsis. *Perspect. Pediatr. Pathol.* 1973; 1: 285—311.

REFERENCES

1. Traumatic intracavitary hemorrhage in children. *Resuscitation and surgical aspects: Materials of the symposium of children's surgeons*. 22.04.2008. Ekaterinburg: UGMA; 2008 (in Russian).
2. Komissarov I.A., Filippov D.V., Yalfimov A.N., Denisov A.A. Conservative treatment of closed spleen injuries in children. *Rossiyskiy vestnik detskoy khirurgii, anesteziologii i reanimatologii*. 2010; 2: 79—80 (in Russian).
3. Apartsin K.A., Gumerov R.R., Galeev Yu.M. et al. Disseminated splenosis after splenectomy. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2009; 10: 53—5 (in Russian).
4. Marques R.G. I, Petroianu Y. II, Coelho J.M.C. de O. II. Bacterial phagocytosis by macrophage of autogenous splenic implant. *Braz. J. Biol.* 2003; 63 (3):
5. Grigovich I.N., Derbenev V.V., Leukhin M.V. i dr. Reasonable conservatism in the emergency children's surgery. *Rossiyskiy vestnik detskoy khirurgii, anesteziologii i reanimatologii*. 2011; 4: 16—9 (in Russian).
6. Martin L.W. Autologous splenic transplantation. *Ann. Surg.* 1994; 219 (3): 223—4.

7. Kat'ko V.A., Averin V. I., Svirskiy A.A. *Diagnosis and treatment of closed spleen injuries in children*. Minsk: BGMU; 2009 (in Russian).
8. Podkamenev V.V., Pikalo I.A., Mikhailov N.I., Ivanov V.O. Long-term results of conservative treatment of splenic injury with intraperitoneal bleeding in children. *Rossiyskiy vestnik detskoj khirurgii, anesteziologii i reanimatologii*. 2011; 4: 50—5 (in Russian).
9. Nielsen J.L., Sakso P., Sorensen F.H., Hansen H.H. Demonstration of splenic functions following splenectomy and autologous spleen implantation. *Acta Chir. Scand*. 1984; 150 (4): 469—73.
10. Svirskiy A.A. *Treatment of isolated splenic injuries in children*. In: *Problems of pediatric surgery of the new century: Proceedings of the International scientific and practical conference*. Grodno; 2001: 51—4 (in Russian).
11. Petroianu A., Simal C.J.R., Barbosa A.J.A. Assessment of phagocytic function in remnants of subtotal splenectomy and in autologous spleen implantation. *Med. Sci. Res*. 1993; 21 (10): 715—7.
12. Singer D.B. Postsplenectomy sepsis. *Perspect. Pediatr. Pathol*. 1973; 1: 285—311.

Поступила 04.12.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616-002.3-022-02:617-089]-07

Машков А.Е., Слесарев В.В., Щербина В.И., Филюшкин Ю.Н., Друзюк Е.З.

ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ АДЕКВАТНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ ГНОЙНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Отделение детской хирургии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

Слесарев Вячеслав Викторович (Slesarev Vyacheslav Viktorovich), e-mail: vyach@inbox.ru

Правильная оценка интенсивности и остроты воспалительного процесса имеет большое значение в лечении детей с тяжелыми формами гнойной хирургической инфекции и является важным фактором для проведения адекватной коррекции имеющихся изменений. В нашей клинике проведено исследование взаимосвязи между активностью воспалительного процесса у детей с тяжелыми формами хирургической инфекции (острый гематогенный остеомиелит, острая гнойно-деструктивная пневмония) и некоторыми клиническими и лабораторными показателями. Были определены параметры адекватности воспалительного ответа (ПАВО), которые соответствуют оптимальному варианту воспалительного процесса — нормоэргической воспалительной реакции. Сравнение изучаемых показателей со значениями ПАВО позволяет дать определенную количественную оценку воспалительной реакции при данной патологии, проводить ее медикаментозную коррекцию (активизировать гипоэргическую и подавлять гиперэргическую реакцию) и обосновывать хирургическую тактику.

Ключевые слова: *гнойная хирургическая инфекция; дети; воспалительная реакция; пневмония; остеомиелит.*

Mashkov A.E., Slesarev V.V., Shcherbina V.I., Filyushkin Yu.N., Druzyuk E.Z.

ASSESSMENT OF ADEQUACY PARAMETERS OF THE INFLAMMATORY RESPONSE IN CHILDREN WITH SEVERE FORMS OF SUPPURATIVE SURGICAL INFECTION

M.V.Vladimirov Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow

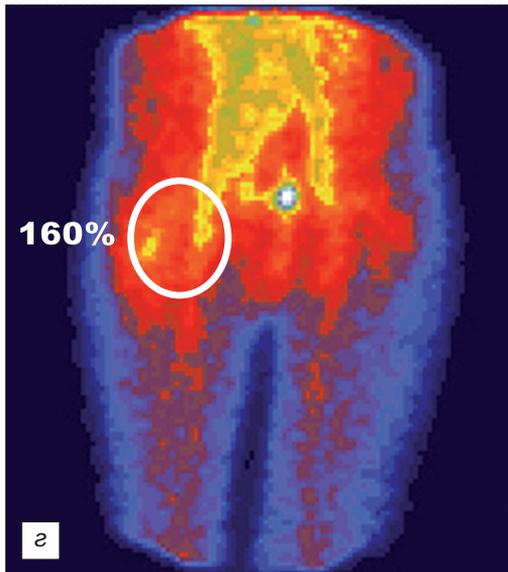
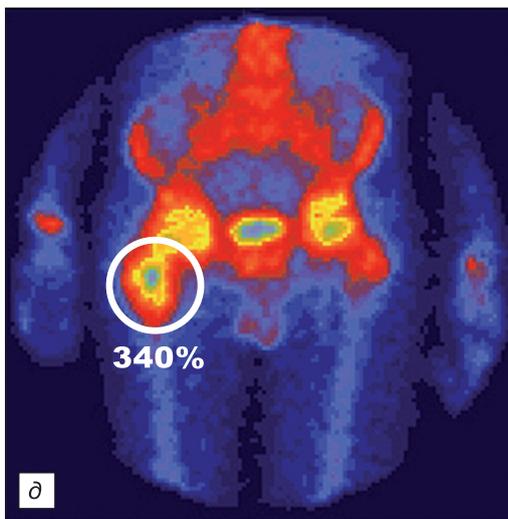
Correct evaluation of an intense and acute inflammatory process is essential for the successful treatment of children with severe surgical suppurative infection and adequate correction of concomitant changes. We studied the relationship between activity of the inflammatory process in children with acute hematogenous osteomyelitis, acute pyodestructive pneumonia and selected clinical and laboratory characteristics. Parameters of the adequate inflammatory response (PAIR) corresponded to the optimal variant of the inflammatory process, i.e. normoergic inflammatory reaction. Comparison of these data with PAIR values allow for quantitative assessment of the inflammatory reaction, its adequate medicamentous correction (activation of hypoergic reaction and suppression of hyperergic one), and substantiation of surgical strategy.

Key words: *suppurative surgical infection, children, inflammatory reaction, pneumonia, osteomyelitis.*

Одной из актуальных проблем хирургии детского возраста является лечение тяжелых форм гнойной хирургической инфекции (острая гнойная деструктивная пневмония, острый гематогенный остеомиелит, разлитой перитонит). В терапии детей с этой патологией большое значение имеет правильная оценка интенсивности и остроты воспалительного процесса, а также состояния иммунной системы, что в свою очередь является важным фактором для проведения адекватной коррекции имеющихся изменений [1—3].

В общебиологическом отношении воспаление представляет собой важную защитно-приспособительную реакцию, сформировавшуюся в процессе эволюции как способ сохранения целого организма ценой повреждения его части. Это способ аварийной защиты организма, применяемый в том случае, когда организм не смог справиться с вредным агентом

путем его физиологической элиминации, что привело к повреждению. Воспаление является своеобразным биологическим и механическим барьером, при помощи которого обеспечиваются локализация и элиминация патогенного агента и (или) поврежденной им ткани и ее восстановление. Воспалительный очаг выполняет не только барьерную, но и дренажную функцию: с экссудатом из крови в очаг выходят продукты нарушенного обмена, токсины. Кроме того, воспаление влияет на формирование иммунитета. Вместе с тем целесообразность воспаления как защитно-приспособительной реакции является безусловной лишь в эволюционно-биологическом отношении и как местный процесс при определенной локализации и распространенности воспаление может сопровождаться общими патологическими проявлениями (интоксикация, изменение реактивности и др.) и даже



К ст. А.П. Поздеева
и соавт.

Рис. 9. Первично-хронический остеомиелит проксимального метафиза правой бедренной кости у пациента Ш., 12 лет.

Рентгенограмма (а), компьютерные томограммы (б, в) и сцинтиграммы (з — фаза перфузии, д — фаза костной фиксации).

К ст. Д.А. Морозова и соавт.

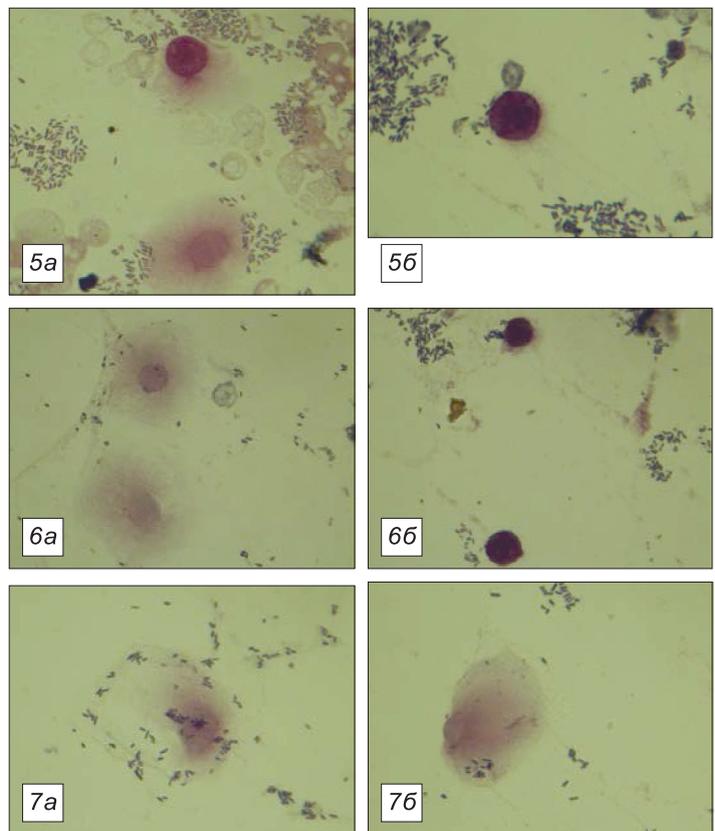


Рис. 5. Различная активность фагоцитов крыс со спленомом (а) и аспленизацией (б) в мазке крови.

Рис. 6. Различная степень хемотаксиса фагоцитов крыс со спленомом (а) и аспленизацией (б) в мазке крови.

Рис. 7. Различия фагоцитарного числа в макрофаге крысы со спленомом (а) и аспленизацией (б) на 30-й день после операции.