

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У БОЛЬНЫХ, ОПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ СЛОЖНЫХ ФОРМ ОСТРОГО ПАРАПРОКТИТА

И. В. Иоффе, С. Н. Усачев

Луганский государственный медицинский университет МЗ Украины

## IMMUNOHISTOCHEMICAL AND CYTOLOGICAL ASSESSMENT OF LOCAL INFLAMMATORY REACTION IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD IN PATIENTS UNDERGOING SURGERY FOR COMPLEX FORMS OF ACUTE PARAPROCTITIS

I. V. Joffe, S. N. Usachev

Сегодня вопросы диагностики и лечения сложных форм острого парапроктита не решены. Недостаточность сфинктера заднего прохода после радикальных операций, по данным литературы, выявляют у 7,2 — 33% пациентов, рецидивы заболевания — у 15 — 30% [1 — 3]. По поводу острых форм парапроктита часто выполняют нерадикальные операции — разрез для опорожнения гнойника без устранения источника его возникновения. После простого вскрытия и дренирования гнойника в 50 — 90% наблюдений формируется параректальный свищ, воспалительный процесс переходит в хроническую стадию [4 — 7]. Если вскрытие гнойника и его дренирование не являются предметом дискуссии, то относительно способов устранения гнойного хода и его внутреннего отверстия мнения исследователей неоднозначны. Из сфинктеросохраняющих операций широко используют пластические вмешательства с перемещением участка слизистой оболочки прямой кишки. Суть хирургической тактики заключается в разделении лечения на два этапа, которые осуществляют через непродолжительный период времени, не выписывая пациента из стационара. Первым этапом производят вскрытие гнойника, вторым —

### Реферат

Определены оптимальные сроки выполнения второго (пластического) этапа ранней отсроченной радикальной операции у больных по поводу сложных форм острого парапроктита. На 7-е сутки после вскрытия гнойника в мазке из поверхностного слоя раны цитограмма воспалительно—регенераторного типа отмечена у 66,8% пациентов, раннего регенераторного типа — у 33,2%. На 10-е сутки наблюдали цитограммы регенераторного типа. Динамика концентрации цитокинов в раневой жидкости на 7-е сутки свидетельствовала о благоприятном течении раневого процесса без повышения уровня провоспалительных цитокинов, что позволяло выполнить второй этап ранней отсроченной операции через 7 — 10 сут.

**Ключевые слова:** острый парапроктит; хирургическое лечение; раневой процесс; цитокины; цитологическое исследование.

### Abstract

The optimal time to fulfill the second (plastic) phase delayed early radical surgery in patients over the complicated forms of acute paraproctitis. On the 7th day after the opening of an abscess in a smear from the surface layer of the wound inflammatory regenerative cytogram type was observed in 66.8% of patients, early regenerative type — at 33.2%. On the 10th day was observed regenerative cytogram type. The dynamics of the concentration of cytokines in wound fluid on the 7th day showed a favorable course of wound healing process, without increasing the levels of proinflammatory cytokines, which allowed to perform the second stage of early delayed surgery in 7 — 10 days.

**Key words:** acute paraproctitis; surgery; wound process; cytokines; cytologic investigation.

выполняют пластическое закрытие внутреннего отверстия путем перемещения участка слизистой оболочки. Это позволяет устранить причину парапроктита без повреждения сфинктера заднего прохода [8 — 10]. Нами предложен способ пластического закрытия первичного отверстия и гнойного хода с применением obturator из биосовместимого материала на основе коллагена.

Цель исследования: изучить течение раневого процесса путем иммуногистохимической и цитологической оценки локальной воспалительной реакции у пациентов, которым выполнены радикальные операции по поводу сложных форм острого парапроктита, определить оптимальные сроки выполнения второго этапа ранних отсроченных вмешательств.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты распределены на две группы. В основную группу включены 57 пациентов (женщин — 25 в возрасте в среднем 48,8 года, мужчин — 32 в возрасте в среднем 45,4 года), у которых при вскрытии гнойника четко выявлено первичное отверстие гнойного хода, однако он расположен высоко трансфинктерно или экстрасфинктерно, что не позволило осуществить радикальную операцию одномоментно. В последующем им произведена ранняя отсроченная радикальная операция с пластическим закрытием внутреннего отверстия и первичного гнойного хода с применением биосовместимого материала на основе коллагена.

В группу сравнения вошли 72 пациента, у которых по поводу острого парапроктита применяли общепринятые методы радикального оперативного лечения: вскрытие гнойника с рассечением гнойного хода в просвет кишки — у 32, лигатурный метод — у 40. Женщин было 30 в возрасте в среднем 48,7 года, мужчин — 42 в возрасте в среднем 46,5 года.

Для цитологического исследования материал забирали путем легкого соскоба поверхностного слоя раны в 1, 3, 7—е и 10—е сутки лечения. Полученный материал окрашивали по Романовскому — Гимза. Количество клеток подсчитывали в 5 полях зрения при увеличении  $\times 400$ .

Концентрацию интерлейкинов (ИЛ), в том числе ИЛ—1 $\beta$ , ИЛ—4, ИЛ—8, ИЛ—10, а также фактора некроза опухолей— $\alpha$  (ФНО— $\alpha$ ) в раневом экссудате определяли в те же сроки методом иммуноферментного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех больных в 1—е и 3—и сутки после операции в раневом отделении определяли изменения воспалительного типа. До 3—х суток цитограммы дегенеративно—воспалительного типа наблюдали у большинства (70,5%) пациентов, независимо от примененного метода лечения.

В 1—е сутки после вмешательства в составе мазков содержались элементы тканевого детрита и фибринозного экссудата, конгломерат из детрита и дистрофически—измененных и разрушенных нейтрофильных гранулоцитов (НГ) со значительным количеством эритроцитов и обилием (более 40 в поле зрения) НГ с гиперсегментированными ядрами и фестончатыми, разрушенными контурами цитоплазмы.

Состав мазков такого типа у 33% больных характеризовался вялой лейкоцитарной реакцией и, соответственно, преобладанием тканевого детрита и геморрагического компонента по сравнению с лейкоцитарным. На 3—и сутки после операции данные цитологических исследований во многом напоминали таковые в 1—е сутки: цитолиз, сморщивание и распад НГ, чаще в виде скопления погибших клеток. Вместе с тем, количество микроорганизмов значительно уменьшалось, в отдельных препаратах их выявляли в виде мелких скоплений. В этот период появлялись макрофаги с базальной локализованной цитоплазмой, некоторые из них — в стадии распада.

Через 7 сут после операции отмечены признаки уменьшения выраженности воспалительных изменений, параллельно — активизация регенераторных процессов. По данным гистологических исследований, отсутствовали микроорганизмы, в НГ — некробиотические изменения, появлялись зрелые полибласты, увеличивалось количество молодых полибластов.

При анализе мазков—отпечатков на 7—е сутки после операции характер цитограмм изменялся в зависимости от вида оперативного вмешательства. У 32 пациентов, которым произведено одномоментное вскрытие и дренирование гнойника на промежности с использованием полулунного разреза с рассечением свища в просвет кишки, а также больных основной группы отмечены цитограммы воспалительно—регенераторного (у 66,8%) или раннего регенераторного (у 33,2%) типа.

В 4,6% наблюдений выявляли более крупные лимфоцитоподобные

клетки типа полибластов со светлыми рыхлыми ядрами, содержащими 2 — 4 ядрышка, и слабо базофильной гомогенной цитоплазмой. Макрофаги представлены всеми основными разновидностями: моноцитоподобными, составлявшими меньшинство, активными фагоцитами и многоядерными макрофагальными клетками. Преобладали крупные, активные макрофаги с нечеткими фестончатыми контурами и значительно вакуолизированной цитоплазмой. В единичных многоядерных клетках отмечены узурированная поверхность, выраженная вакуолизированная, слабо базофильная цитоплазма, 3 — 5 крупных овальных ядра.

У этих пациентов смена фаз раневого процесса происходила быстрее, чем у больных при применении лигатурного метода. Это проявлялось увеличением общей массы клеток лимфоцитарно—макрофагального типа, значительным уменьшением количества сегментоядерных НГ. Позитивная динамика цитограмм соответствовала клиническим данным. Раны заполнялись грануляциями быстрее, размеры ран прогрессивно уменьшались вследствие контракции и краевой эпителизации.

При использовании лигатурного метода на 7—е сутки после вскрытия гнойника цитограммы воспалительно—регенераторного типа отмечены у 78,3% пациентов, раннего регенераторного типа — у 21,2%.

В мазках—отпечатках при применении лигатурного метода значительно преобладали лейкоциты, преимущественно НГ. На 7—е сутки после операции количество лейкоцитов в мазках—отпечатках составило в среднем  $189,5 \pm 8,5$ ; у больных после рассечения свища в просвет кишки и вскрытия гнойника как первого этапа ранней отсроченной радикальной операции — соответственно  $148,4 \pm 7,1$  и  $152,7 \pm 3,6$  ( $p < 0,05$ ).

На 10—е сутки после вскрытия гнойника у пациентов основной группы в цитограммах преобладали клетки молодой грануляционной ткани — фибробласты, макрофаги, эндотелий, полибласты; количество

НГ не превышало 40%, что соответствовало регенераторному типу цитограммы. Такой тип отмечали также у пациентов, которым осуществляли одномоментное вскрытие и дренирование гнойника с рассечением свища в просвет кишки.

При применении лигатурного метода на 10-е сутки цитограммы регенераторного типа отмечены у 25 (62,5%) пациентов, у 7 (17,5%) — цитограмма соответствовала воспалительному типу, у 8 (20%) — воспалительно-регенераторному.

При исследовании локального статуса цитокинов в раневой жидкости у больных, которым произведено одномоментное вскрытие и дренирование гнойника с рассечением свища в просвет кишки, выявлены изменения, характерные для типичного раневого процесса.

Концентрация ФНО- $\alpha$  в 1-е сутки после операции была максимальной с постепенным уменьшением на 7-е и 10-е сутки. Так, в день вскрытия гнойника уровень ФНО- $\alpha$  — составил в среднем  $(24,03 \pm 1,03)$  пг/мл, на 10-е сутки —  $(13,11 \pm 2,22)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Отмечена исходно высокая концентрация ИЛ-1 $\beta$  —  $(218,16 \pm 5,43)$  пг/мл и ИЛ-8 —  $(281,6 \pm 10,46)$  пг/мл.

Сочетанное повышение уровня ИЛ-8 обусловлено тем, что секретируемый НГ ИЛ-1 $\beta$  в ответ на влияние липополисахарида через аутокринно-паракринный механизм обеспечивает вторую (позднюю) фазу продукции НГ ИЛ-8. Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10, относительно стабильная с 1-х по 7-е сутки, к концу периода наблюдения достоверно уменьшалась в 1,8 раза по сравнению с исходной.

Уровень противовоспалительно-го ИЛ-10 косвенно характеризует тяжесть воспаления. Уменьшение синтеза мононуклеарными клетками ИЛ-10 в период лечения свидетельствует об уменьшении тяжести воспаления. При заживлении гнойной раны отмечают сочетанное снижение уровня ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$ , что характерно для нормальной иммунологической реактивности и благоприятных условий заживле-

ния гнойной раны, поскольку ИЛ-10 ингибирует продукцию ФНО- $\alpha$ .

В отличие от ИЛ-10, концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-4, подавляющего активность макрофагов и процесс биосинтеза ими цитокинов, несколько увеличилась, максимально — на 7-е сутки после операции — до  $(61,5 \pm 1,84)$  пг/мл. На 10-е сутки отмечено умеренное уменьшение концентрации цитокина.

Концентрация ИЛ-1 $\beta$  в день вскрытия гнойника составила в среднем  $(189,21 \pm 7,37)$  пг/мл, на 10-е сутки —  $(117,5 \pm 3,42)$  пг/мл, т. е. уменьшилась в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация ИЛ-8 при госпитализации составляла  $(210,91 \pm 8,85)$  пг/мл, уже на 7-е сутки после операции —  $(133,4 \pm 8,51)$  пг/мл.

Динамика концентрации ИЛ-10 и ИЛ-4 существенно не различалась от таковой у пациентов, которым производили одномоментное вскрытие и дренирование гнойника на промежности с рассечением свища в просвет кишки.

Исходно сниженная концентрация ИЛ-4 имела тенденцию к увеличению до 10-х суток после операции, концентрация ИЛ-10 — уменьшалась с  $(82,44 \pm 12,06)$  до  $(58,3 \pm 6,51)$  пг/мл на 10-е сутки после вскрытия гнойника ( $p < 0,05$ ).

Концентрация ФНО- $\alpha$  при применении лигатурного метода лечения фактически не изменялась на протяжении 10 сут после операции: исходная —  $(24,31 \pm 2,11)$  пг/мл, на 10-е сутки —  $(23,15 \pm 4,51)$  пг/мл. При использовании других методов лечения концентрация ФНО- $\alpha$  уменьшалась в среднем в 1,5 раза.

Длительное повышение уровня ФНО- $\alpha$  при использовании лигатурного метода свидетельствовало о более медленной смене фаз раневого процесса, что, безусловно, задерживало заживление раны.

Концентрация ИЛ-1 $\beta$  в 1-е сутки после операции составляла  $(197,31 \pm 4,35)$  пг/мл, на 3, 7-е и 10-е сутки — соответственно  $(175,4 \pm 6,11)$ ,  $(160,4 \pm 7,44)$  и  $(154,5 \pm 4,12)$  пг/мл. Концентрация провоспалительных цитокинов была стабильно увеличена на протяжении 10 сут после вскрытия гнойника.

Цитокины начинают синтезироваться клетками только при наличии чужеродного агента в организме. Это способствует формированию иммунной реакции, охраняющей внутреннюю среду организма от всех генетически чужеродных агентов.

Вскрытие гнойника с применением всех методов способствовало быстрой элиминации возбудителя, однако при использовании лигатурного метода концентрация провоспалительных цитокинов в течение длительного времени была стабильно высокой. Такой профиль цитокинов возможен при непрерывном (многократном) поступлении в ткани либо длительном нахождении в тканях антигенных структур (лигатура).

При применении лигатурного метода концентрация ИЛ-10 в 1-е сутки после операции составляла  $(83,44 \pm 12,06)$  пг/мл, на 3, 7-е и 10-е сутки — соответственно  $(78,4 \pm 4,76)$ ,  $(77,4 \pm 9,14)$ ,  $(62,3 \pm 6,11)$  пг/мл. Она была стабильно высокой в течение всего периода наблюдения.

Концентрация ФНО- $\alpha$  у больных, которым производили вскрытие гнойника как первый этап ранней отсроченной операции, прогрессивно уменьшалась на протяжении 10 сут после операции. Так, исходная концентрация ФНО- $\alpha$  составляла  $(20,04 \pm 1,12)$  пг/мл, на 10-е сутки —  $(12,21 \pm 2,26)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Уменьшение показателя достоверно различалось по сравнению с таковым при применении лигатурного метода: уже на 3-и сутки после вскрытия гнойника концентрация ФНО- $\alpha$  составила соответственно  $(16,3 \pm 1,04)$  и  $(25,02 \pm 1,13)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Концентрация ИЛ-1 $\beta$  на 7-е сутки после вскрытия гнойника у пациентов основной группы составила  $(127,14 \pm 5,31)$  пг/мл, что достоверно отличалось от этого показателя при применении лигатурного метода —  $(160,4 \pm 7,44)$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

В отличие от ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у больных основной и группы срав-

нения существенно не различалась.

У всех пациентов, за исключением тех, у кого применяли лигатурный метод, наблюдали плавное снижение уровня ИЛ—4 до минимума на 10—е сутки после операции. На 7—е сутки концентрация ИЛ—4 у больных после вскрытия гнойника составила в среднем ( $41,44 \pm 1,14$ ) пг/мл, на 10—е сутки — ( $38,21 \pm 3,13$ ) пг/мл; после применения лигатурного метода — соответственно ( $57,5 \pm 1,14$ ) и ( $69,22 \pm 2,13$ ) пг/мл ( $p < 0,05$ ).

ИЛ—4 подавляет активность макрофагов и процесс биосинтеза ими провоспалительных цитокинов ФНО— $\alpha$ , ИЛ—8. Исходя из этого,

можно предположить, что увеличение концентрации ИЛ—4 у больных при применении лигатурного метода лечения обуславливает нарушение баланса про— и противовоспалительных медиаторов с длительным сохранением высокого уровня провоспалительных цитокинов, при этом увеличение концентрации ИЛ—4 является компенсаторной реакцией.

Таким образом, воспалительный процесс при применении лигатурного метода лечения, по сравнению с другими методами, более длительный, очищение раны замедлено вследствие позднего появления макрофагальной реакции и ее слабой

выраженности. Формирование грануляционной ткани также замедлено. Замедленная смена фаз раневого процесса обусловлена, вероятно, наличием инородного тела в ране (лигатура), что также поддерживает воспаление вследствие постоянного давления и прорезывания тканей.

Благоприятному течению раневого процесса в основной группе способствовало отсутствие повышения уровня провоспалительных цитокинов, что позволило выполнить второй этап ранней отсроченной операции на 7 — 10—е сутки после вскрытия гнойника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бегишев О. Б. Особенности разных форм острых парапроктитов / О. Б. Бегишев, А. Е. Белоусов, О. П. Боровикова // Актуальные вопросы колопроктологии. — Уфа, 2007. — 45 с.
2. Лаврешин И. М. Лечение острого парапроктита / И. М. Лаврешин // Лечение острого парапроктита: материалы XII Всеевроп. конгр. колопроктологов. — М., 2008. — С. 67.
3. Jacob T. J. Surgical intervention for anorectal fistula / T. J. Jacob, B. A. Perakath, M. R. Keighley // Cochrane Database Syst. Rev. — 2010. — N 7. — P. 63 — 68.
4. Болквядзе Э. Э. Клиническая классификация и выбор метода операции у больных острым рецидивирующим парапроктитом с экстрасфинктерным гнойным ходом / Э. Э. Болквядзе // Пробл. колопроктологии. — М., 1998. — 46 с.
5. Воробьев Г. И. Выбор метода хирургического лечения больных со сложными формами острого рецидивирующего парапроктита / Г. И. Воробьев, А. М. Коплатадзе, Э. Э. Болквядзе // Актуальные вопросы колопроктологии. — 2003. — № 2. — С. 45 — 55.
6. Гайнутдинов Ф. М. Результаты лечения острого рецидивного парапроктита / Ф. М. Гайнутдинов, А. В. Куляпин // Актуальные проблемы колопроктологии: тез. докл. 6—й Всерос. конф. с междунар. участием — М., 2005. — С. 57 — 59.
7. Коплатадзе А. М. Тактика и методы радикального хирургического лечения острого рецидивирующего парапроктита / А. М. Коплатадзе, С. Д. Ким, Э. Э. Болквядзе // Актуальные проблемы колопроктологии. — М., 1997. — С. 67 — 69.
8. Камаева Д. К. Основы колопроктологии / Д. К. Камаева. — М.: Мед. информ. агентство, 2006. — 98 с.
9. Чарышкин А. Л. Результаты хирургического лечения больных острым парапроктитом / А. Л. Чарышкин, А. А. Солдатов, И. Н. Дементьев // Ульян. мед.—биол. журн. — 2011. — № 4. — С. 49 — 53.
10. Этков В. Н. Опыт хирургического лечения сложных форм прямокишечных свищей с применением фибринового клея / В. Н. Этков, Р. В. Попов, Н. Н. Коротких // Колопроктология. — 2011. — № 3. — С. 59 — 60.

