

УДК 616.381-002-089.168

АПОПТОЗ ТА НЕКРОЗ ЦИРКУЛЮЮЧИХ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ У ХВОРИХ З ВИСОКИМ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ

В.Д. Шейко, Д.А. Ситнік, О.А. Шкурупій

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Вступ. На сучасному етапі розвитку абдомінальної хірургії проблема діагностики та лікування післяопераційного перитоніту (ПП) займає особливе місце. Поряд із удосконаленням хірургічної техніки, розширенням показань до хірургічних втручань та збільшенням їх об'єму, ПП залишається найчастішою причиною релапаротомій [1, 10, 12]. Серед загальної кількості ускладнень ПП складає 43,7-63,8%, що є причиною смерті 50-86% цих хворих [6, 9, 10, 12]. Особливе значення проблема ПП набуває по відношенню до хворих похилого та старечого віку, які оперовані в екстреному порядку на фоні декомпенсації супутніх захворювань [1, 6, 9, 10, 12]. Першочерговим завданням при лікуванні хворих із гострими абдомінальними захворюваннями (ГАЗ) є раннє прогнозування та профілактика розвитку ПП. В умовах лавиноподібно наростаючої інтоксикації, при ПП відбувається активізація апоптозу – закладеної природою у кожній клітині ссавців програми самознищення – зворотного до певного моменту процесу, який дозволяє біологічно доцільно контролювати кількісні та якісні характеристики клітин різних тканин – нейтрофілів, лімфо-, ендотеліо-, гепато-, ентеро-, міокардіоцитів та інш. [6]. Вивчення процесів апоптозу при ПП дозволить оптимізувати діагностичну та лікувальну тактику. [2, 3].

Мета дослідження. Вивчити співвідношення процесів апоптозу та некрозу циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів у післяопераційному періоді після хірургічного лікування ГАЗ і оцінити його прогностичну значимість для попередження розвитку та прогресування ПП.

Матеріали та методи. Проведений аналіз співвідношення процесів апоптозу та некрозу циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів у 43 хворих із середнім та високим ризиком розвитку та прогресування ПП, згідно оригінального способу запропонованого нами [5, 7]. При цьому 28 (65,1%) хворих склали групу із високим ступенем ризику виникнення ПП після первинної санації черевної порожнини з приводу ГАЗ, а 15 (34,9%) – із середнім ступенем ризику.

Для порівняння співвідношення процесів апоптозу та некрозу циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів дослідження проводили на 1 добу післяопераційного періоду, та на 4 добу післяопераційного періоду (період максимального прояву симптомів інтраабдомінальних інфекційних ускладнень та декомпенсації супутньої патології).

Проводили вивчення апоптозу та некрозу шляхом оптичної мікроскопії периферичних нейтрофілів [2, 3, 5, 6].

До дослідження включені хворі, які відповідали наступним критеріям: 1. Хворі з ГАЗ, які ускладнилася розвитком перитоніту, і потребували в ургентному порядку ліквідації джерела перитоніту та санації черевної порожнини; 2. Вік пацієнтів від 18 до 93 років включно. Із дослідження виключено пацієнтів, у яких внаслідок декомпенсації тяжкої супутньої патології та розвитку тяжкої поліорганної недостатності, смерть настала у найближчому післяопераційному періоді (перші 1-3 доби).

Чоловіків було 24 (55,8%), жінок – 19 (44,2%). Середній вік пацієнтів становив $58,6 \pm 1,63$ років. Хворі обох груп за статтю, віком, етіологічним чинником основного захворювання, причинами, які призвели до ПП, тяжкістю стану, який оцінювався за допомогою шкали APACHE II, показниками Мангеймського перитоніального індексу, були порівняні.

Результати та їх обговорення. При аналізі гемограми у практично здорових донорів і у хворих основної групи з ГАЗ встановлено наявність дегенеративних змін у нейтрофільних гранулоцитах різного ступеня прояву (табл. 1).

Рівень спонтанного апоптозу нейтрофілів у мазках, приготованих відразу після взяття крові, серед пацієнтів основної групи, у яких був високий ризик виникнення ПП, збільшився у 1,5 рази порівняно з таким у здорових донорів (табл. 1). Слід зазначити, що у хворих після санації черевної порожнини, стан яких характеризувався, як середній ступінь ризику ПП, частота нейтрофілів у стадії апоптозу була на рівні групи здорових донорів.

При підрахунку кількості нейтрофілів, які руйнувалися шляхом некрозу, встановлено, що у хворих із високим ризиком ПП основної групи вірогідно зростав рівень неприродного типу руйнування периферичних нейтрофілів порівняно зі здоровими донорами. При цьому, рівень некрозу гранулоцитів у хворих із середнім ступенем ризику виникнення ПП, суттєво не збільшувався порівняно з групою донорів (табл. 1).

Таблиця 1

Морфологічні особливості апоптозу нейтрофілів у пацієнтів із гострими абдомінальними захворюваннями на першу добу після оперативного втручання

Групи хворих	Здорові донори	Основна група	
		Середній ступінь ризику ПП, n = 15	Високий ступінь ризику ПП, n = 28
Апоптоз нейтрофілів, %	10,1 ± 0,37	11,3 ± 0,68 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,05	15,0 ± 0,67 p ₁ < 0,001
Некроз нейтрофілів, %	46,8 ± 1,97	48,8 ± 3,61 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,05	54,1 ± 2,84 p ₁ < 0,05
Некроз/апоптоз нейтрофілів	4,63 ± 0,27	4,32 ± 0,42 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,02	3,60 ± 0,33 p ₁ < 0,05

Примітки:

1. p₁ – показник вірогідних відмінностей результатів порівняно зі значеннями здорових донорів.
2. p₂ – показники вірогідних відмінностей результатів порівняно з високим ступенем ризику.

При аналізі співвідношення частоти розвитку некроз/апоптоз встановлено, що на першу добу після первинної санації черевної порожнини з приводу ГАЗ у пацієнтів із констатованим високим ризиком виникнення ПП цей показник зменшився у 1,3 рази. Це свідчить про превалювання апоптичної загибелі нейтрофілів у хворих із високим ризиком виникнення ПП та сумнівним прогнозом. При цьому, у підгрупі пацієнтів із середнім ризиком виникнення ПП співвідношення неприродної до природної загибелі клітин крові знаходилося на рівні здорових донорів (табл. 1).

На четверту добу після первинної санації черевної порожнини серед пацієнтів, у яких на основі використаної нами прогностичної шкали, встановлено високий ступінь ризику, незважаючи на проведене адекватне лікування, ПП виник у 23 (82,1%) хворих. При цьому лише у 5 (17,9%) пацієнтів ПП не виник. У підгрупі з початковим середнім ступенем ризику ПП у 6 (40%) хворих виникло післяопераційне ускладнення у вигляді ПП. При цьому у 9 (60%) ПП не виник.

На четверту добу після первинної лапаротомії відмічались суттєві зміни характеру загибелі нейтрофілів периферичної крові у хворих основної групи (табл. 2).

Таблиця 2

Морфологічні особливості апоптозу нейтрофілів у пацієнтів із гострими абдомінальними захворюваннями на четверту добу після оперативного втручання

Групи хворих	Здорові донори	Основна група			
		Середній ступінь ризику перитоніту, n = 15		Високий ступінь ризику перитоніту, n = 28	
		Розвився, n = 6	Не розвився, n = 9	Розвився, n = 23	Не розвився, n = 5

Апоптоз нейтрофілів, %	10,1 ± 0,37	6,72 ± 0,53 p ₁ < 0,001	10,8 ± 0,94 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,002	5,13 ± 0,42 p ₁ < 0,001	9,97 ± 0,78 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,01
Некроз нейтрофілів, %	46,8 ± 1,97	60,3 ± 4,81 p ₁ < 0,05	56,8 ± 3,92 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,002	64,2 ± 4,19 p ₁ < 0,002	54,1 ± 3,97 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,01
Некроз/апоптоз нейтрофілів	4,63 ± 0,27	8,97 ± 0,69 p ₁ < 0,001	5,26 ± 0,42 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,001	12,5 ± 0,73 p ₁ < 0,001	5,42 ± 0,41 p ₁ > 0,25 p ₂ < 0,01

Примітки:

1. p₁ – показник вірогідних відмінностей результатів порівняно зі значеннями здорових донорів.
2. p₂ – показники вірогідних відмінностей результатів порівняно з високим ступенем ризику.

Аналізуючи кількісні показники шляху загибелі нейтрофільних гранулоцитів, слід відзначити, що в основній групі пацієнтів із високим ризиком ПП і у яких розвився ПП відмічалось суттєве зменшення частоти розвитку апоптозу нейтрофілів у 2,2 рази в порівнянні зі здоровими донорами (табл. 2). При цьому в підгрупі, де не розвився ПП, частота спонтанної загибелі гранулоцитів шляхом апоптозу лишалась на рівні групи донорів.

Дослідження процесів апоптозу при середньому ступеню ризику показало, що у хворих, у яких на четверту добу розвився ПП спостерігалось зменшення цього показника у 1,5 рази. При сприятливому перебігу післяопераційного періоду частота фізіологічної загибелі нейтрофілів лишалась на рівні здорових донорів (табл. 2).

Протилежні зміни відмічались при дослідженні руйнування нейтрофілів шляхом некрозу. Розвиток ПП у хворих з високим ступенем ризику викликав підвищення у 1,4 рази частоти загибелі нейтрофілів периферичної крові шляхом некрозу в порівнянні з

групою донорів. Серед пацієнтів цієї групи, у яких не розвився ПП на четверту добу після первинної санації черевної порожнини, частота некрозу периферичних нейтрофілів суттєво не збільшувалась. При середньому ступені ризику розвиток ПП на четверту добу після первинної санації черевної порожнини супроводжувався вірогідним збільшенням некрозу нейтрофілів у порівнянні зі здоровими донорами. Перебіг післяопераційного періоду при середньому ступені ризику ПП без ускладнень також супроводжувався незначним, але вірогідним збільшенням частоти некрозу фагоцитів (табл. 2).

Такі зміни призводили до вірогідного зростання перерозподілу співвідношення некроз/апоптоз у бік некрозу у підгрупах пацієнтів, у яких на четверту добу розвився ПП на відміну від хворих, у яких післяопераційне ускладнення не виникло, незалежно від початкового ступеня ризику (табл. 2).

Висновки.

1. Посилення процесів фізіологічної і нефізіологічної загибелі нейтрофілів периферичної крові, а також зміна її співвідношення в бік останньої, вочевидь вказує на високу ймовірність розвитку післяопераційних ускладнень у вигляді ПП.
2. Зроблені на основі досліджень висновки, поряд із даними розрахунків, які виконані на групі порівняння, дають можливість зробити попередній прогноз і передбачити виникнення цих ускладнень ще до їх розвитку та обрати оптимальну тактику лікування.

Перелік літератури.

1. Косинец В.А. Влияние новой патогенетически обоснованной схемы комплексного лечения распространённого гнойного перитонита на течение воспалительного процесса / В.А. Косинец // Хирургия. – 2012. – № 8. – С. 69 – 73.

2. Келина Н.Ю. Изменения гематологических показателей в реактивной стадии разлитого перитонита в ранний послеоперационный период / Н.Ю. Келина, Н.В. Безручко, Е.Р. Кулюцина // Вестник интенсивной терапии. - 2002. - №2. - С. 32 - 35.

3. Келина Н.Ю. Иммунобиохимические механизмы интоксикационного синдрома при остром разлитом перитоните / Н.Ю. Келина // Анестезиология и реаниматология. - 1996. - №5. - С.24 - 26.
4. Осложнения в хирургии живота / [Н.Н. Волобуев, С.В. Готье, В.В. Жебровский и др.]; Под ред. В.В. Жебровского. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 448 с.
5. Пат. 63558 Україна, МПК А61В 5/0205, А61В 10/00. Спосіб прогнозування розвитку післяопераційного перитоніту при гострій абдомінальній патології / Шейко В.Д., Ситнік Д.А., Прихідько Р.А.; заявник та патентовласник Вищий державний навчальний заклад України “Українська медична стоматологічна академія”, м. Полтава. - № у 201103682; заявл. 28.03.2011; опубл. 10.10.2011. – Бюл. № 19, 2011.
6. Савельев В.С. Перитонит. // Под редакцией Савельева В.С., Гельфанда Б.Р., Филимонова М.И. – 2006. – Москва, Литтерра. – 208 с.
7. Ситнік Д.А. Прогнозування розвитку післяопераційного перитоніту при гострій абдомінальній патології / Д.А. Ситнік // Харківська хірургічна школа. – 2011. – № 3 (48). – С. 158-160.
8. Ballus J. Surgical site infection in critically ill patients with secondary and tertiary peritonitis: epidemiology, microbiology and influence in outcomes / J. Ballus, JC. Lopez-Delgado, J. Sabater-Riera // BMC Infect. Dis. – 2015. – №1 (30). – P. 153 – 157.
9. Dynamic changes of microbial flora and therapeutic consequences in persistent peritonitis / P. Montravers, G. Dufour, J. Guglielminotti [et al.] // Crit Care. – 2014. – №2. – P. 19 - 24.
10. Koperna T. Relaparotomy in Peritonitis: Prognosis and Treatment Patients with Persisting Intraabdominal Infection / T. Koperna, F. Schulz // World Journal of Surgery. – 2010. – №24. – P. 32 –37.
11. Moldawer L.L. Emerging evidence of a more complex role for proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the sepsis response / L.L. Moldawer, R.M. Minter, J.E.

Rectenwald // P. 145-154. in: Multiply organ failure: pathophysiology, prevention, and therapy. Ed. by A.E. Baue, E. Faist, D.E. Fry. Springer-Verlag New York, 2000, 697 p

12. Wittman D.H. Management of secondary peritonitis. / Wittman D.H., Schein M., Condon R.E. // Ann Surg. – 1996. – Vol.224: 1: 10. – P.18.

РЕЗЮМЕ

АПОПТОЗ ТА НЕКРОЗ ЦИРКУЛЮЮЧИХ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ У ХВОРИХ З ВИСОКИМ РИЗИКОМ РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ

В.Д. Шейко, Д.А. Ситнік, О.А. Шкурупій

Проведено дослідження процесів апоптозу та некрозу периферичних нейтрофілів у 43 хворих, які оперовані з приводу гострих абдомінальних захворювань, на 1-шу та 4-ту добу післяопераційного періоду. Встановлено динамічні зміни у післяопераційному періоді процесів апоптозу та некрозу периферичних нейтрофілів у хворих із гострими абдомінальними захворюваннями. Несприятливий перебіг раннього післяопераційного періоду у пацієнтів з початковим високим і середнім ступенем ризику виникнення післяопераційного перитоніту супроводжується зростання перерозподілу співвідношення некроз/апоптоз у бік некрозу периферичних нейтрофілів.

Ключові слова: післяопераційний перитоніт, гострі абдомінальні захворювання, апоптоз та некроз периферичних нейтрофілів.

РЕЗЮМЕ

АПОПТОЗ И НЕКРОЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ВЫСОКИМ РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИТОНИТА

В.Д. Шейко, Д.А. Сытник, О.А. Шкурупий

Проведено исследование процессов апоптоза и некроза периферических нейтрофилов у 43 больных, которые были оперированы по поводу острых абдоминальных заболеваний, на 1-е и 4-е сутки послеоперационного периода. Установлены динамические изменения в послеоперационном периоде процессов

апоптоза и некроза периферических нейтрофилов у больных с острыми абдоминальными заболеваниями. Неблагоприятное течение раннего послеоперационного периода у пациентов с изначально высокой и средней степенью риска возникновения послеоперационного перитонита сопровождается ростом перераспределения соотношения некроз/апоптоз в сторону некроза периферических нейтрофилов.

Ключевые слова: послеоперационный перитонит, острые абдоминальные заболевания, апоптоз и некроз периферических нейтрофилов.

SUMMARY

APOPTOSIS AND NECROSIS OF CIRCULATING NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN PATIENTS WITH HIGH RISK OF DEVELOPMENT OF POSTOPERATIVE PERITONITIS

V.D. Sheyko, D.A. Sytnik, A.A. Shkurupy

The study of the processes of apoptosis and necrosis of neutrophils of peripheral 43 patients who were operated on for acute abdominal diseases, on 1st and 4th day of the postoperative period. Installed dynamic changes in the postoperative period the processes of apoptosis and necrosis of peripheral neutrophils in patients with acute abdominal diseases. Adverse early postoperative period in patients with initially high and medium risk of occurrence of postoperative peritonitis is accompanied by an increase in the redistribution of the ratio of necrosis/apoptosis towards necrosis of peripheral neutrophils.

Keywords: postoperative peritonitis, acute abdominal diseases, apoptosis and necrosis of neutrophils of peripheral.