

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗБЫТОЧНОГО АДГЕЗИОГЕНЕЗА

И.А. Снимщикова, А.И. Медведев, В.С. Анцупова,
М.А. Халилов, И.А. Шманева, Е.П. Новикова, А.В. Гострый

Орловский государственный университет, медицинский институт, Орел, Россия

Одной из актуальных проблем абдоминальной хирургии детского возраста остается профилактика образования спаек после оперативных вмешательств и воспалительных заболеваний органов брюшной полости, поскольку спаечный процесс может стать причиной кишечной непроходимости, тазовых болей, последующего бесплодия и внематочной беременности у девочек, социально-психологической дезадаптации и ухудшения качества жизни детей [2, 3, 4].

Данные исследований патогенеза спаечного процесса, критериев ранней диагностики и прогноза, несмотря на многочисленность, достаточно противоречивы, что не позволяет разработать стройную лечебно-диагностическую концепцию.

Значительный прогресс в изучении клеточных и молекулярных основ функционирования иммунной системы позволил существенно изменить представления о роли системных и локальных факторов иммунной защиты в патогенезе различных заболеваний [3, 4]. Однако при избыточном адгезиогенезе закономерности регуляции иммунной системы остаются практически неисследованными. До настоящего времени нет единого мнения о состоянии системного иммунитета и факторов иммунной защиты брюшины при формировании перитонеальных спаек, не определена значимость иммунологических критериев в оценке активности репаративной регенерации тканей, приводящей к избыточному адгезиогенезу при воспалительных заболеваниях и после оперативных вмешательств на органах брюшной полости и малого таза.

В рамках классических представлений о патогенезе спаечного процесса пусковым моментом образования внутрибрюшных фиброзных соединительнотканых спаек является повреждение или воспаление брюшины [3, 4, 18].

Особая анатомо-гистологическая структура брюшины, включающая поверхностное мезотелиальное покрытие и подлежащую богатую сосудами соединительную ткань, обуславливает её особую реакцию на повреждение. Благодаря адгезивным свойствам мезотелия, дефекты брюшины, независимо от их площади, быстро реэпителизируются. Кроме того, покрывая органы брюшной полости и малого таза, брюшина участвует в отграничении очагов воспаления и поддержании гомеостаза путем регуляции процессов водно-электролитного и белкового обмена [2].

В брюшной полости человека обычно содержится от 5 до 20 мл перитонеальной жидкости (ПЖ), состав и объем которой подвержен значительным колебаниям и зависит от физиологического состояния организма, возраста и вида патологии. Изменение количества и состава перитонеальной жидкости происходит при любом патологическом процессе, поражающем органы брюшной полости (острые и хронические воспалительные заболевания, действие термических, механических и др. факторов), и часто развивается в сочетании с нарушением реологических свойств экссудата, гиперсекрецией [2, 4, 18].

Так, при острых гнойно-воспалительных заболеваниях матки и ее придатков у девочек, флегмонозном аппендиците количество ПЖ увеличивается в 3–5 раз, при травмах и опухолях гениталий ее объем варьирует в широких пределах и определяется патофизиологическими механизмами, характерными для того или иного заболевания, видом воспаления, соотношением дистрофических и репаративных процессов в тканях [2, 4].

Данные, регламентирующие содержание тех или иных клеток в ПЖ, достаточно противоречивы. В перитонеальном экссудате здоровых лиц содержатся в основном три типа клеток: макрофаги, полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ) и лимфоциты. Источниками свободных макрофагов являются млечные пятна сальника, откуда они мигрируют в брюшную полость. Из сосудов сальника мигрируют в ПЖ и лимфоциты. При воспалительном процессе или после операции из кровеносных сосудов в ПЖ поступает большое количество ПЯЛ и изменяется состав перитонеальной жидкости [2, 3, 4]. По соотношению клеточных элементов перитонеального экссудата судят о выраженности воспалительных реакций в послеоперационной ране. Так, исследование цитограмм ПЖ, взятой интраоперационно, а также в динамике лечения детей после аппендэктомии (на 1, 2, 3 сут.), показало, что изменения клеточного состава ПЖ в послеоперационном периоде имели определенную закономерность: в первые сутки после операции у всех больных преобладал нейтрофильный цитоз, а на 2–3 день отмечалась смена клеточных популяций со снижением числа нейтрофилов и повышением количества макрофагов и лимфоцитов. При этом уменьшение или полное отсутствие макрофагов в ране тормозило образование грануляционной ткани и процесс рубцевания. Вместе с тем, получены данные о росте популяции макрофагов на поздних сроках послеоперационного периода при образовании массивных перитонеальных спаек [3].

Известно, что функциональное состояние фагоцитов во многом определяет течение и исход воспалительного процесса в брюшной полости. В результате активации перитонеальных макрофагов и действия продуцируемых ими медиаторов и ферментов происходит очищение зоны воспаления с последующей регенерацией, восстановлением ткани и образованием фибриновых спаек [18]. Накопление в фибриновых сращениях фибробластов и прорастание капилляров способствует трансформации фибриновых

сращений в фиброзные соединительнотканые спайки [2, 18]. В ходе проведенных нами исследований было установлено, что спаечные процессы органов брюшной полости сопровождаются повышением адгезивной способности мононуклеарных фагоцитов и макрофагов перитонеальной жидкости, что может инициировать усиленную миграцию фагоцитов в зону операционной травмы, их чрезмерную активацию с высвобождением медиаторов воспаления, и в конечном итоге приводить к извращению стереотипной динамики процесса и неадекватному фиброзу.

В регуляции фибробластической фазы, сменяющей нейтрофильную и макрофагальную фазы воспаления, ведущую роль играют медиаторы, продуцируемые полиморфноядерными нейтрофилами и перитонеальными макрофагами. Имеющиеся литературные данные и результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о значительном повышении в перитонеальной жидкости больных со спаечными процессами органов малого таза не только количества перитонеальных фагоцитов, но и продукции ими активных метаболитов кислорода, образующихся в результате ишемического повреждения тканей. [1, 3]. В отличие от нейтрофилов, макрофаги более эффективно контролируют поступление микробицидных метаболитов кислорода в среду, регулируя тем самым нежелательное разрушение клеток. Однако гиперпродукция свободных радикалов (супероксидного аниона, синглетного кислорода, гидроксильного радикала) не только расширяет эффекторные возможности фагоцитов, но и может приводить к деструкции самих макрофагов. Кроме того, под влиянием антигенной стимуляции макрофагов происходит усиленный выброс активаторов плазминогена с последующей депрессией фибринолиза. Анализ данных литературы свидетельствуют о том, что образование фибриновых сгустков на поверхности операционной раны является физиологически необходимым для гемостаза и герметизации раны, а снижение фибринолитической активности перитонеальной жидкости или содержания тканевого активатора плазминогена сопровождается частым образованием спаек [2, 4, 18].

При этом ишемия ткани в большей степени, чем потеря мезотелия, препятствует абсорбции фибрина. Брюшина вследствие ишемии теряет свою фибринолитическую активность, что приводит к образованию фибриновых спаек даже при отсутствии операционной раны в брюшной полости [2, 4, 18].

В развитии ишемических процессов тканей в последние годы активно обсуждается роль оксида азота. Появилось достаточно сведений об этом универсальном регуляторе систем внутриклеточной и межклеточной сигнализации и эффекторе иммунной системы, однако его значение в развитии спаечного процесса остается недостаточно изученным [1, 3]. Проведенные нами исследования по определению концентрации метаболитов NO в сыворотке крови, ПЖ, а также в культуре клеток здоровых лиц и детей со спаечным процессом органов малого таза показали, что уровень суммарной продукции нитритов и нитратов был значительно ниже у больных с избыточным адгезиогенезом, чем у здоровых лиц. Кроме того, отмечалось снижение, по сравнению со здоровыми донорами, показателей спонтанного и цитокинстимулированного синтеза метаболитов NO в культуральной жидкости перитонеальных макрофагов и мононуклеарных фагоцитов крови больных, что, вероятно, обусловлено усилением процесса деградации NO свободными радикалами кислорода и ингибирующим действием противовоспалительных цитокинов. Как известно, дисбаланс локальной и системной продукции про- и противовоспалительных цитокинов имеет место при различных патологических состояниях и может служить одним из критериев иммунообусловленности воспаления [2, 3, 4]. Однако закономерности цитокиновой регуляции адгезиогенеза изучены недостаточно. О характере изменений продукции цитокинов при спаечных процессах органов малого таза можно судить преимущественно по публикациям, в которых рассматривается уровень экспрессии генов цитокинов в спайках маточных труб, а также концентрация цитокинов в сыворотке крови больных с патологией органов брюшной полости.

Проведенное нами исследование цитокинового статуса при избыточном адгезиогенезе показало, что у подростков со спаечными процессами органов малого таза, в отличие от здоровых лиц, наблюдалось повышение уровня про- (ИЛ-1 β , ФНО- α) и противовоспалительных (ИЛ-10 и ТФР- β 1) цитокинов, которое сочеталось с нарушением цитокинсинтезирующей функции перитонеальных макрофагов и мононуклеарных фагоцитов крови. При сравнении концентраций указанных цитокинов в ПЖ и сыворотке крови было установлено их значительное повышение на локальном уровне. ИЛ-8 в сыворотке крови ни у здоровых, ни у больных подростков не определялся, тогда как в ПЖ больных его концентрация значительно превышала физиологическую норму. Кроме того, следует отметить, что изменения продукции ряда цитокинов были взаимосвязаны. Наиболее выраженной была зависимость между концентрациями ИЛ-1 β и ИЛ-10, что согласуется с данными литературы о том, что уровень ИЛ-10 наиболее повышен у пациенток со спаечными процессами, у которых велико содержание ИЛ-1 β [4]. Статистически значимая прямая корреляционная зависимость отмечена и между уровнем ФНО- α и плейотропным медиатором роста и пролиферации клеток ТФР- β 1. Заслуживают внимания данные об обратной корреляции между уровнями продукции ТФР- β 1 и NO, а также их взаимосвязи со степенью выраженности спаечного процесса. Так, для адгезиогенеза значительной степени выраженности были характерны более низкие концентрации метаболитов оксида азота и более высокие показатели ТФР- β 1. Корреляционная зависимость между уровнями продукции цитокинов, активирующих или подавляющих воспалительную реакцию, либо трансформирующих рост клеток,

указывает на наличие взаимобратной регуляции экспрессии генов при формировании спаек, что свидетельствует о потенциальной возможности снижения риска спайкообразования и регуляции его процесса благодаря вмешательству в него на молекулярном уровне, в частности путем модулирования продукции цитокинов [3, 4].

Большие перспективы в изучении иммунопатогенеза перитонеального спаечного процесса связаны с выявлением механизмов формирования врожденного иммунитета, в первую очередь таких его компонентов, как PRR (pattern-recognition receptors), распознающие «патоген-ассоциированные молекулярные образы», и антимикробные пептиды. В литературе накапливается все больше данных о том, что PRR (Toll-like и NOD– рецепторы) являются связующим звеном между врожденной и адаптивной иммунной системой, так как через них активируются гены, ответственные за синтез провоспалительных цитокинов, хемокинов и др. регуляторных молекул [11, 14, 15, 16, 17, 20].

Изучению иммунного гомеостаза и дисрегуляции механизмов защиты кишечника при воспалительных заболеваниях и оперативных вмешательствах на органах брюшной полости посвящены многочисленные исследования последних лет. Получены данные, свидетельствующие о том, что TLR9, подобно TLR3 и TLR5, экспрессируются эпителиальными клетками слизистой оболочки кишечника здоровых лиц, тогда как уровень экспрессии TLR2 и TLR4 у них значительно ниже [11, 14, 16, 17, 20].

Иммуногистохимические и иммунофлюоресцентные методы исследования выявили наиболее высокий уровень экспрессии TLR9 клетками Панета (Paneth cells) [11, 12, 13, 16, 17], которые локализуются на дне кишечных крипт, преимущественно в тонком кишечнике и червеобразном отростке. В отличие от большинства других Toll-like рецепторов, TLR9 располагаются внутриклеточно: в фагоцитах – эндосомально, а в нефагоцитирующих клетках – преимущественно на уровне секреторных гранул, содержащих антимикробные пептиды (α -дефенсины) [6, 8, 10, 21].

Интерес представляют данные о том, что подобно TLR9, NOD2 рецепторы преимущественно расположены вблизи секреторных гранул клеток Панета, что свидетельствует о важной роли NOD2 в регуляции функций данных клеток, обеспечивающих защиту против кишечных бактерий, и объясняет вероятный механизм их участия в патогенезе воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта [11, 12, 13, 16, 17].

В недавних исследованиях было продемонстрировано, что NOD2 является рецептором для ГМДП (глюкозоминилмурамилдипептида) – минимального биологически активного компонента пептидогликанов, входящих в состав клеточной стенки всех известных бактерий. Результатом взаимодействия лиганд-рецептор является активация NF κ -B и индукция экспрессии большого числа генов: провоспалительных цитокинов, молекул адгезии, белков острой фазы, противомикробных пептидов и др. [5, 11, 14].

Характер экспрессии α -дефенсинов клетками кишечника свидетельствует о важной роли этих пептидов в местной защите органов брюшной полости. Инфекционные агенты индуцируют увеличение продукции α -дефенсинов клетками Панета [6, 8, 10, 21]. Показано, что HD5 обладает антимикробной активностью в отношении *Lactobacillus monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и др. На фоне относительно стабильно высокой продукции α -дефенсина в тонкой кишке и более низкой в других участках желудочно-кишечного тракта экспрессия β -дефенсина отличается большой индивидуальной вариабельностью в отношении отдельных пептидов, их локализации и патогенных условий [6, 8].

Наряду с дефенсинами в кишечнике человека идентифицирована еще одна разновидность антимикробных белков – кателицидин LL-37/ hCAP-18 [6, 9, 10, 19, 22]. Кателицидин, проявляя антимикробную активность против грамотрицательных, грамположительных бактерий, грибов и вирусов, оказывает синергический антибактериальный эффект с дефенсинами.

Нарушение выработки противомикробных пептидов с повышением или снижением их экспрессии зарегистрировано при многих заболеваниях человека, в том числе желудочно-кишечного тракта (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, сальмонеллез и др.) [11, 21]. Проведенные нами исследования выявили повышение продукции LL-37 у большинства детей, перенесших оперативное вмешательство по поводу острого аппендицита, что может свидетельствовать об активации синтеза кателицидина клетками желудочно-кишечного тракта.

Полученные на крысах экспериментальные данные по моделированию спаечного процесса в условиях применения ГМДП, а также результаты клинического применения Ликопада в периоперационном периоде у детей с острым аппендицитом убедительно свидетельствуют о перспективности использования в программах профилактики и лечения абдоминального спаечного процесса препарата «Ликопад».

Таким образом, раскрытие иммунологических механизмов формирования избыточного адгезиогенеза открывает новые возможности в разработке подходов к профилактике и лечению спаечных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний / П.П. Голиков. – М., 2004. – 315 с.
2. Мынбаев О.А. Послеоперационные спайки у гинекологических больных: этиология, патогенез и принципы хирургического лечения и профилактики / О.А. Мынбаев // Эндоскопия в гинекологии. – М.: «Виктория-пресс», 1999. – С. 163–166.
3. Снимщикова И.А. Эффективность локальной иммунокоррекции в комплексном лечении спаечных процессов органов малого таза / И.А. Снимщикова, В.С. Анцупова, А.И. Медведев и др. // Russian Journal of Immunology. – 2007. – V.9. – S.4. – С. 63–70.

4. Сухих Г.Т. Механизмы иммунной защиты при острых и хронических заболеваниях органов репродуктивной системы / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько // *Акушерство и гинекология*. – 2006, № Приложение. – С. 17–24.
5. Cario E. Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: toll-like receptors and NOD2 / E. Cario // *Gut*, August 1, 2005; 54(8). P. 1182 – 1193.
6. Cunliffe R.N. Expression and regulation of antimicrobial peptides in the gastrointestinal tract / R.N. Cunliffe, Y.R. Mahida // *Journal of Leukocyte Biology*, 2004; 75. – P. 49–58.
7. Elphick D. Paneth cells: their role in innate immunity and inflammatory disease / D. Elphick, Y. R. Mahida // *Gut*, December 1, 2005; 54(12). – P. 1802 – 1809.
8. Elphick D. Impaired Luminal Processing of Human Defensin-5 in Crohn's Disease: Persistence in a Complex with Chymotrypsinogen and Trypsin / D. Elphick, S. Liddell, Y. R. Mahida // *Am. J. Pathol.*, 2008; 172(3). – P. 702 – 713.
9. Elssner A. A Novel P2X7 Receptor Activator, the Human Cathelicidin-Derived Peptide LL37, Induces IL-1 Processing and Release / A. Elssner, M. Duncan, Mikhail Gavrilin and Mark D. Wewers *The Journal of Immunology*, 2004, 172: 4987–4994.
10. Harder J. Human antimicrobial proteins effectors of innate immunity / J. Harder, R. Glaser, J.-M. Schroder // *Innate Immunity*, December 1, 2007; 13(6). – P. 317 – 338.
11. Heel D. Synergy between TLR9 and NOD2 innate immune responses is lost in genetic Crohn's disease / D. Heel, S. Ghosh, K. Hunt // *Gut*, November 1, 2005; 54(11). P. 1553 – 1557.
12. Keshav S. Paneth cells: leukocyte-like mediators of innate immunity in the intestine / S. Keshav // *J. Leukoc. Biol.*, September 1, 2006; 80(3). – P. 500 – 508.
13. Lin P.W. Paneth cell cryptdins act in vitro as apical paracrine regulators of the innate inflammatory response / P.W. Lin, P.O. Simon, A.T. Gewirtz // *J. Biol. Chem.*, 2004, 3. P. 1182–1200.
14. Ogura Y. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis / Y. Ogura, S. Lala, W. Xin // *Gut*, 2003; 52. – P. 1591–1597.
15. Philpott D.J. The role of Toll-like receptors and Nod proteins in bacterial infection / D.J. Philpott, S.E. Girardin // *Mol Immunol.*, 2004; 41. – P. 1099–108.
16. Rachmilewitz D. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis / D. Rachmilewitz, K. Katakura, F. Karmeli // *Gastroenterology*, 2004, 126. P. 520–528.
17. Rumio C. Degranulation of Paneth Cells via Toll-Like Receptor 9 / C. Rumio, D. Besusso, M. Palazzo, S. Selleri // *American Journal of Pathology*, 2004; 165. – P. 373–381.
18. Saed GM. Molecular characterization of fibroblasts isolated from human peritoneum and adhesions / GM. Saed, W. Zang, MP. Diamond // *Fertility and sterility*. – 2001. – № 75. – P. 763–768.
19. Saiman L. Cathelicidin Peptides Inhibit Multiply Antibiotic-Resistant Pathogens from Patients with Cystic Fibrosis / L. Saiman, S. Tabibi, T.D. Starner // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, October 2001. – Vol. 45, N. 10. – P. 2838–2844.
20. Takeda K. Toll-like receptors in innate immunity / K. Takeda, S. Akira // *Int. Immunol.*, 2005; 17. –P. 1–14.
21. Wehkamp J. Defensin deficiency, intestinal microbes, and the clinical phenotypes of Crohn's disease / J. Wehkamp, M. Schmid, K. Fellermann // *J. Leukoc. Biol.*, April 1, 2005; 77(4). – P. 460 – 465.
22. Weiner D. The Antimicrobial Activity of the Cathelicidin LL37 Is Inhibited by F-actin Bundles and Restored by Gelsolin / D.Weiner, Bucki R. // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2003. – Vol. 28. – P. 738–745.