

УРОВЕНЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ УШИВАНИЯ РАЗРЫВА ТОНКОЙ КИШКИ В УСЛОВИЯХ ПЕРИТОНИТА

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

На кроликах было смоделировано повреждение тонкой кишки при закрытой травме живота, воспроизведен патологический процесс в трех различных стадиях: разрыв тонкой кишки без осложнений, разрыв тонкой кишки, осложненный 3-х часовым перитонитом, и разрыв тонкой кишки, осложненный суточным перитонитом. При моделировании каждой из трех стадий было выполнено ушивание кишки одним из трех различных способов: стандартный ручной шов, эвертированный механический шов с перитонизацией серозно-серозным швом, эвертированный механический шов с укрытием лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны. Выявлены изменения уровня интерлейкина-6 в динамике у животных с перитонитом и без него. Наибольшее снижение уровня ИЛ-6 произошло в группе СТ+АМ. Выявлен достоверно высокий уровень ИЛ-6 у погибших животных

Ключевые слова: *закрытая травма живота, повреждение тонкой кишки, амниотическая мембрана, эвертированный механический шов, перитонит, интерлейкин-6.*

N. V. Zavada, O. E. Volkov, N. V. Moskaleva

INTERLEYKIN-6 LEVEL CHANGES FOLLOWING VARIOUS INTESTINAL RUPTURE SUTURING METHODS IN RABBITS PERITONITIS

We performed an experimental study to compare application of original stappled intestinal suture covered with amniotic membranae and general (common) intestinal suture methods. Abdominal trauma with intestinal rupture model was used to create each of three conditions: intestinal rupture without any septic complications, intestinal rupture complicated with 3 hours-last acute peritonitis

and intestinal rupture complicated with 24 hours-last acute peritonitis. In each of these groups we use one of three suture: standart two-layer hand stitch, stappled everted stitch with serosal peritonisation and original stappled intestinal suture covered with amniotic membranae. Interleukin-6 level changes in dynamics in animals with peritonitis and without it have been revealed. The role of interleukin as a prognostic death marker has been evaluated.

Keywords: blunt abdominal trauma, intestinal suture, intestinal rupture model, stappled suture, amniotic membranae, peritonitis, Interleukin-6.

Проблема повреждения тонкой кишки при закрытой травме живота является особенно актуальной в условиях перитонита и сочетанной травмы [1]. Системное распространение медиаторов воспаления из первичного патологического очага при гипервоспалительной реакции в виде пангиперцитокинемии может вызывать синдром системного воспалительного ответа, сопровождающийся вторичным иммунодефицитом ввиду интенсивной стимуляции интерлейкинами про- и противовоспалительных механизмов, вызывая их рефрактерность [2–4]. Иммуномодулирующие и антибактериальные свойства амниотической мембраны (за счет наличия на ее поверхности антагонистов различных биологически активных молекул и интерлейкинов), послужили основанием для проведения исследований и ее применения в офтальмологии (пластика роговицы), нейрохирургии (пластика мозговых оболочек), комбустиологии (укрытие дефектов кожи), абдоминальной хирургии (профилактика спаечной болезни, укрепление кишечного шва) [5, 6].

Цель исследования – оценить влияние местного применения криоконсервированной амниотической мембраны в составе оригинального кишечного шва на сывороточный уровень ИЛ-6 в условиях перитонита и без него.

Материал и методы. Под внутримышечным наркозом прооперирован 81 белый кролик. Выполнялась срединная лапаротомия с моделированием повреждения тонкой кишки механическим ударным устройством. Сразу же после нанесения удара, поврежденная кишка вместе с излившимся содержимым помещалась в брюшную полость.

После моделирования повреждения тонкой кишки все животные были разделены на 3 группы в за-

висимости от длительности течения болезни: группа без перитонита (ПО), где ушивание кишки выполнялось незамедлительно; группа с 3-х часовым перитонитом (ПЗ), где поврежденная петля помещалась в брюшную полость, брюшная полость, закрывалась временными одиночными швами и через 3 часа выполнялась релапаротомия и ушивание кишки; группа с суточным перитонитом (П24), где брюшная полость закрывалась на 24 часа одиночными швами, после чего выполнялось ушивание тонкой кишки. В каждой из этих групп ушивание выполнялось одним из следующих способов: (РШ) – ушивание ручным двурядным непрерывным вворачивающимся швом; (СТ) – ушивание эвертированным механическим швом линейным аппаратом УКЛ-40 с закрытием его серозным швом; (СТ+АМ) – ушивание эвертированным механическим швом линейным аппаратом УКЛ-40 который укрывался лоскутом криоконсервированной амниотической мембраны.

Взятие крови для исследования проводилось из краевой вены уха кролика на 0-е, 1-е, 2-е и 7-е сутки эксперимента в каждой группе. Выявление ИЛ-6 проводили методом твердофазного ИФА (ELISA) с использованием наборов коммерческого производства «Rabbit IL-6 DuoSet ELISA, 96 тестов, R&D Systems, США».

Результаты и обсуждение. Провели исследование уровня ИЛ-6 в крови кроликов без перитонита на 0-е, 1-е, 2-е и 7-е сутки эксперимента, что представлено в таблице 1.

При сравнении показателей ИЛ-6 в крови кроликов до начала эксперимента статистически значимых различий не выявлено ($p = 1,0$). Но уже в первые сутки отмечено статистически значимое повышение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп

Таблица 1. Уровень ИЛ-6 у лабораторных животных в группах ПО

Сутки	РШ, n = 9	СТ, n = 9	СТ+АМ, n = 9	Mann-Whitney U Test, p
	Уровень ИЛ-6 в сыворотке крови, Me (P25; P75), пг/мл			
0-е сутки	7,64 (6,0;36,12)	8,79 (5,73;30,22)	8,5 (6,3;31,69)	
1-е сутки	48,5 (35,12;79,22)	44,5* (39,14;71,22)	42,4* (29,56;65,28)	$p_{1-2} = 0,96$ $p_{1-3} = 0,57$ $p_{2-3} = 0,76$
2-е сутки	45,5*(39,15;71,00)	48,5*(36,12;82,00)	43,5*(36,15;70,29)	$p_{1-2} = 0,89$ $p_{1-3} = 0,88$ $p_{2-3} = 0,83$
7-е сутки	33,56*(26,16;59,52)	30,5*(27,00;55,56)	26,5*(18,86;50,22)	$p_{1-2} = 0,96$ $p_{1-3} = 0,31$ $p_{2-3} = 0,27$

Примечание. * – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,05$).

Таблица 2. Уровень ИЛ-6 у лабораторных животных в группах ПЗ

Сутки	РШ, n = 9	СТ, n = 9	СТ+AM, n = 9	Mann-Whitney U Test, p
	Уровень ИЛ-6 крови, Ме (P25; P75), пг/мл			
0-е сутки	11,5(6,0;25,12)	9,79(6,5;27,14)	9,34(6,8;29,6)	
1-е сутки	70,5*(59,00;96,5)	70,4*(41,16;111,5)	69,23(37,12;84,44)	p ₁₋₂ = 0,96 p ₁₋₃ = 0,48 p ₂₋₃ = 0,57
2-е сутки	80,3*(69,2;145,0)	71,0*(42,1;158,0)	70,9*(36,6;83,7)	p ₁₋₂ = 0,51 p ₁₋₃ = 0,76 p ₂₋₃ = 0,68
7-е сутки	56,9*(32,09;71,56)	52,2*(31,48;65,56)	30,2*(28,37;49,2)	p ₁₋₂ = 0,83 p ₁₋₃ = 0,04 p ₂₋₃ = 0,12

Примечание. * – статистически значимые различия относительно контроля (p < 0,05).

относительно 0-х суток (p < 0,05). При этом показатели ИЛ-6 в крови кроликов трех групп в первые сутки достоверно не различались между собой (p = 0,86).

На вторые сутки не наблюдалось роста концентрации ИЛ-6 в крови кроликов всех групп (РШ, СТ, СТ+AM) относительно уровня ИЛ-6, измеренного в 1-е сутки эксперимента (Friedman ANOVA, p = 0,55). Не было выявлено и значимых различий по уровню ИЛ-6 в крови между данными группами (p = 0,86).

На седьмые сутки наблюдалось достоверное снижение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп относительно уровня ИЛ-6, измеренного на 2-е сутки эксперимента (Friedman ANOVA, p < 0,001). При этом значимых различий по уровню ИЛ-6 в крови между группами (p = 0,45). Следует отметить, наибольшее снижение уровня ИЛ-6 произошло в группе СТ+AM.

При моделировании 3-х часового перитонита (таблица 2) и сравнении показателей ИЛ-6 в крови кроликов до начала эксперимента статистически значимых различий не выявлено (Kruskal-Wallis test, p = 0,98).

В первые сутки выявлено статистически значимое повышение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп относительно 0-х суток (Wilcoxon Test, p < 0,001). Показатели ИЛ-6 в крови кроликов трех групп в первые сутки достоверно не различались между собой (p = 0,75).

На вторые сутки наблюдался рост концентрации ИЛ-6 в крови кроликов всех групп (РШ, СТ, СТ+AM) относительно уровня ИЛ-6, измеренного в 1-е сутки эксперимента, что не было статистически значимо (Friedman ANOVA, p = 0,24). Не было выявлено и значимых различий по уровню ИЛ-6 в крови между группами (p = 0,48).

На седьмые сутки эксперимента наблюдалось достоверное снижение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп относительно уровня ИЛ-6, измеренного на 2-е сутки эксперимента (Friedman ANOVA, p = 0,002). Значимых различий по уровню ИЛ-6 в крови между группами (РШ, СТ, СТ+AM) не выявлено (p = 0,09).

Следует отметить, наибольшее снижение уровня ИЛ-6 произошло в группе СТ+AM. При попарном сравнении уровня ИЛ-6 с помощью критерия Mann-

Whitney установлено, что его уровень был значимо ниже, чем в группе РШ (30,2 (28,37;49,2) n = 8 против 56,9 (32,09;71,56) пг/мл, n = 8 соответственно Mann-Whitney U Test, p = 0,04).

Анализ по подгруппам. В первые сутки эксперимента в группе РШ у одного из кроликов отмечалось увеличение медианы уровня ИЛ-6 в 23 раза (6 пг/мл против 140,5 пг/мл), относительно уровня ИЛ-6 до начала эксперимента. На вторые сутки рост ИЛ-6 в крови у данного кролика продолжился и составил в 2,6 раза (140,5 пг/мл против 375, 56 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 в первые сутки (такой динамики ИЛ-6 в крови у остальных кроликов не отмечалось). На 3 сутки данный кролик умер. Также у двух кроликов в первые сутки эксперимента отмечалось увеличение уровня ИЛ-6 в 7 раз (15,5 пг/мл против 115,44 пг/мл) и в 11 раз соответственно (8,64 пг/мл против 96,5 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 до начала эксперимента (что отличалось от динамики ИЛ-6 в среднем по группе). У данных кроликов не произошло снижения уровня ИЛ-6 в крови к седьмым суткам эксперимента. Эти кролики погибли в послеоперационном периоде.

В группе СТ у трех кроликов отмечалось резкое увеличение медианы уровня ИЛ-6 в 17 раз (9,79 пг/мл против 170,5 пг/мл), в 18 раз соответственно (6,5 пг/мл против 120,12 пг/мл) и в 17 раз (6,4 пг/мл против 111,5 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 до начала эксперимента (что отличалось от динамики ИЛ-6 в среднем по группе). При этом ко вторым суткам у кролика с 17-кратным увеличением уровня ИЛ-6 продолжался рост его концентрации и составил в 2,6 раза относительно уровня ИЛ-6 в первые сутки (такой динамики ИЛ-6 в крови у остальных кроликов не отмечалось). У двух остальных кроликов не произошло снижения уровня ИЛ-6 в крови к седьмым суткам эксперимента. Эти кролики погибли в послеоперационном периоде.

В группе СТ+AM в первые сутки эксперимента был выявлен лишь один кролик со значительным увеличением уровня ИЛ-6 в 5 раз (29,6 пг/мл против 137,5 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 до начала эксперимента. Следует отметить, что в отличие от групп РШ и СТ в группе СТ+AM повышение концент-

Таблица 3. Уровень ИЛ-6 у лабораторных животных в группах (П24)

Сутки	РШ, n = 9	СТ, n = 9	СТ+АМ, n = 9	Mann-Whitney U Test, p
	Уровень ИЛ-6 крови, Ме (P25; P75), пг/мл			
0-е сутки	7,4(6,6;28,26)	9,5(4,73;27,82)	9,5(5,01;29,4)	
1-е сутки	524,0* (453;698)	513,85* (410,9;648,6)	499,9* (482,9;603,0)	$p_{1-2} = 0,62$ $p_{1-3} = 0,82$ $p_{2-3} = 0,92$
2-е сутки	802,3* (662,2;1181,9)	858,5* (662,0;1146,1)	799,9* (685,8;1008,8)	$p_{1-2} = 0,91$ $p_{1-3} = 0,92$ $p_{2-3} = 0,85$
7-е сутки	124,65* (88,3;156,2)	92,0* (86,5;168,6)	53,4* (48,6;75,4)	$p_{1-2} = 0,86$ $p_{1-3} = 0,04$ $p_{2-3} = 0,02$

Примечание. * – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,05$).

рации ИЛ-6 в крови было не так выражено. На вторые сутки рост ИЛ-6 в крови у данного кролика был не значительным и составил в 1,2 раза (137,5 пг/мл против 168, 9 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 в 1-е сутки, однако, на восьмые сутки данный кролик умер.

При моделировании суточного перитонита (таблица 3) и сравнении первоначальных (до начала эксперимента) показателей ИЛ-6 в крови кроликов статистически значимых различий не выявлено (Kruskal-Wallis test, $p = 0,99$).

В первые сутки эксперимента выявлено резкое статистически достоверное повышение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп относительно контроля (до начала эксперимента) (Wilcoxon Test, $p < 0,05$). При этом показатели ИЛ-6 в крови кроликов трех групп в первые сутки достоверно не различались между собой ($p = 0,91$).

На вторые сутки продолжался рост ИЛ-6 в крови кроликов всех групп (РШ, СТ, СТ+АМ) относительно уровня ИЛ-6, измеренного в первые сутки эксперимента, что было статистически достоверно (Friedman ANOVA, $p < 0,05$). Однако значимых различий по уровню ИЛ-6 в крови между группами на вторые сутки не выявлено ($p = 0,58$).

К седьмым суткам эксперимента наблюдалось достоверное снижение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп (РШ, СТ, СТ+АМ) относительно уровня ИЛ-6, измеренного на 2-е сутки эксперимента (Friedman ANOVA, $p < 0,05$). Выявлены значимые различия по уровню ИЛ-6 в крови между группами на седьмые сутки ($p = 0,044$).

Максимальное снижение ИЛ-6 наблюдалось в группе СТ+АМ, что было статистически значимо в сравнении с группами РШ (Mann-Whitney U Test, $p = 0,042$) и СТ (Mann-Whitney U Test, $p = 0,022$).

Анализ по подгруппам. В группе РШ в первые сутки эксперимента у одного из кроликов было выявлено резкое увеличение уровня ИЛ-6 в крови (110 раз (7,3 пг/мл против 803,2 пг/мл) относительно его контрольного уровня ИЛ-6 до начала эксперимента, при этом таких резких скачков ИЛ-6 у остальных кроликов не отмечалось). На 2-е сутки кролик

умер. В группе СТ в первые сутки эксперимента умер 1 кролик, при этом его контрольный уровень ИЛ-6 до начала эксперимента не превышал среднее значение контрольной группы.

В группе РШ на вторые сутки эксперимента отмечался значительный рост уровня ИЛ-6 в крови двух кроликов в 2,7 (524,0 пг/мл против 1453,1 пг/мл) и в 2,5 раза (790,6 пг/мл против 1984,2 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 в первые сутки эксперимента, при этом такой динамики ИЛ-6 у остальных кроликов не отмечалось. В послеоперационном периоде эти кролики погибли.

На седьмые сутки в группе РШ у двух кроликов уровень ИЛ-6 в крови достиг высоких значений: ИЛ-6 в крови в 1,6 раза (910, 6 пг/мл против 1547,3 пг/мл) и в 17 раз (670, 2 пг/мл против 11298,5 пг/мл), в то время как у остальных кроликов группы произошло значительное снижение уровня ИЛ-6 в крови. Кролик с 17-ти кратным нарастанием ИЛ-6 умер на восьмые сутки от перитонита. Второй кролик также умер от перитонита.

На вторые сутки эксперимента в группе СТ также отмечалось значительное увеличение уровня ИЛ-6 в крови трех кроликов в 1,6 (701,5 пг/мл против 1105,5 пг/мл), в 3 раза (503,7 пг/мл против 1572,0 пг/мл) и в 1,7 раза (678,6 пг/мл против 1186,7 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 в первые сутки эксперимента, при этом такого роста уровня ИЛ-6 у остальных кроликов не отмечалось.

На 7 сутки первые два кролика умерли, у третьего кролика уровень ИЛ-6 продолжал нарастать. На восьмые сутки данный кролик умер.

В группе СТ+АМ в первые сутки эксперимента было выявлено резкое повышение уровня ИЛ-6 в крови у двух кроликов в 73 (16,5 пг/мл против 1210,2 пг/мл) и в 165 раз (6,8 пг/мл против 1123,9 пг/мл) относительно уровня ИЛ-6 до начала эксперимента, при этом таких резких скачков ИЛ-6 у остальных кроликов не отмечалось. Уровень ИЛ-6 у данных кроликов нарастал ко вторым суткам и на 7-е сутки данные кролики умерли. У одного из кроликов на седьмые сутки уровень ИЛ-6 нарастал в 3 раза (905,6 пг/мл против 2807,0 пг/мл),

■ Оригинальные научные публикации

Таблица 4. Уровень ИЛ-6 у лабораторных животных в группах ПЗ и П24

Перитонит*	Умершие кролики, n = 19	Выжившие кролики, n = 35	Mann-Whitney U Test, p
	Уровень ИЛ-6 крови, Ме (P25; P75)		
1-е сутки	513,85 (137,5;701,5)	74,9 (49,14;453,0)	$p_{1-2} < 0,001$
2-е сутки	905,6 (177,1;1453,1)	83,78 (58,67;685,0)	$p_{1-2} < 0,001$
7-е сутки	185,2 (160,5;2807,0)	53,5 (32,09;78,3)	$p_{1-2} < 0,001$

Примечание. * – включены животные групп ПЗ и П24, поскольку в группе ПО летальности не отмечено.

в то время как у остальных кроликов группы произошло значительное снижение уровня ИЛ-6 в крови. Данный кролик умер на 8-е сутки эксперимента.

При проведении сравнительной оценки уровня ИЛ-6 в крови умерших и выживших в эксперименте кроликов (таблица 4). Уровень ИЛ-6 был значимо выше в крови умерших кроликов вне зависимости от суток эксперимента (Mann-Whitney U Test, $p < 0,05$).

Таким образом, при моделировании закрытой травмы живота с повреждением тонкой кишки в первые сутки эксперимента выявлено статистически значимое повышение уровня ИЛ-6 в крови кроликов исследуемых групп относительно группы контроля. Уровень ИЛ-6 в крови выше у животных с 3-х часовым перитонитом, чем у животных без перитонита. Максимальные значения ИЛ-6 в плазме отмечены в группе с суточным перитонитом. На вторые сутки наблюдался выраженный рост уровня ИЛ-6 в группах ПЗ и П24. К седьмым суткам эксперимента наблюдалось достоверное снижение уровня ИЛ-6 в крови кроликов всех групп относительно уровня ИЛ-6, измеренного на 2-е сутки эксперимента (Friedman ANOVA, $p < 0,05$) как при перитоните (ПЗ, П24), так и без него (ПО). Наибольшее снижение уровня ИЛ-6 произошло в группе СТ+АМ. При сравнительной оценке уровня ИЛ-6 в крови умерших и выживших в эксперименте кроликов выявлено, что он был значимо выше в крови умер-

ших вне зависимости от суток эксперимента (Mann-Whitney U Test, $p < 0,05$), что говорит о значимости данного маркера как предиктора летального исхода. Соприкасаясь с краями сшиваемых стенок кишки, амниотическая мембрана может оказывать влияние на локальный воспалительный процесс.

Литература

1. Завада, Н. В., О. Е. Волков. Хирургическая тактика при открытых и закрытых повреждениях тонкой и толстой кишки / Экстренная медицина. – 2012. – № 4. – С. 93–106.
2. O'Dwyer, M. J., Owen H. C., Torrance H. D. The perioperative immune response, Curr. Opin. Crit. Care. – 2015. – Vol. 21, № 4. – P. 336–342.
3. Lenz, A., Franklin G. A., Cheadle W. G. Systemic inflammation after trauma / Injury. – 2007. – Vol. 38, № 12. – P. 1336–1345.
4. Holzheimer, R. Local and systemic concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines in human wounds / Eur. J. Med. Res. – 2016. – Vol. 18. – P. 347–55.
5. Mamede, A., Carvalho M., Abrantes A., Laranjo M., Maia C., Botelho M. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications / Cell. Tissue Res. – 2012. – Vol. 349, № 2. – P. 447–458.
6. Fairbairn, N., Randolph M., Redmond R. The clinical applications of human amnion in plastic surgery / J. Plast. Reconstr. aesthetic Surg. – 2014. – Vol. 67. – P. 662–675.

Поступила 06.03.2017 г.