

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 04-07-96030.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ОСЛОЖНЕННЫМ И НЕОСЛОЖНЕННЫМ ТЕЧЕНИЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Турмова Е.П., Силаев А.А.*,

Волков В.В.* Маркелова Е.В., Андреев Д.Б.*.

Филиал ГУНИИКиДальневосточного научного центра СО РАМН, Владивосток

**Филиал ГУНИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН, Владивосток*

Владивостокский Государственный

Медицинский Университет

Общепризнанно, что оперативное вмешательство, особенно с использованием искусственного кро-вообращения, приводит к усугублению имеющихся у кардиохирургических больных нарушений иммунной защиты. Считают, что нарушения иммунной регуляции, наблюдаемые у хирургических пациентов, определяют симптомокомплекс вторичных иммунодефицитов, которые часто проявляются в развитии инфекционно-воспалительных процессов. Однако, нельзя не отметить вариабельность значений, характеризующих различные параметры иммунитета у кардиохирургических пациентов. При этом, патогенетическая сущность изменений, наблюдаемых в иммунной системе больных кардиохирургического профиля все ещё четко не определена. Отсутствие целостного представления о характере иммунодепрессии затрудняет прогнозирование исхода заболевания и обоснование целесообразности назначения и выбора иммунокоррегирующей терапии.

Материалы и методы: Иммунный статус исследовали у 51 больного до- и после проведения аортокоронарного шунтирования (АКШ): из них мужчин - 48 (94%), женщин - 3 (6%), в возрасте от 35 до 65 лет. У всех больных имелось выраженное атеросклеротическое поражение коронарного русла и абсолютные показания к оперативной реваскуляризации миокарда. Пациенты были разделены на две группы: 1 группа - без осложнений в течение послеоперационного периода – 23 человека. (45,5%), 2-ю группу составили больные с послеоперационной инфекционно-воспалительной патологией (плевриты, пневмонии, медиастиниты, перикардиты, нагноение послеоперационной раны) – 28 больных (54,5 %). Все пациенты получали плановую терапию, включающую антибиотики широкого спектра действия, инфузционную терапию, кардиопротективные препараты, антигипертензивные средства, антикоагулянты, антиагреганты, противоишемические препараты, гастропротекторы. Контролем служили 30 практически здоровых доноров. Иммунологическое исследование больных проводили в соответствии с разработанной панелью стандартных тестов. Для исследования иммунного статуса человека использовали метод световой микроскопии с использованием моноклональных антител производства НПЦ «Медбиоспектр» (Россия) к диф-

ференцировочным и активационным маркерам, меченных FITC, докрашенных диаминонебензидином. Для оценки клеточного звена определяли количество (в % и в 1 мкл. крови) лейкоцитов и лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3), их иммунорегуляторных субпопуляций: Т-хелперов (CD4), Т-цитотоксических - (CD8) и их соотношение, которое показывало величину иммунорегуляторного индекса (ИРИ = CD4/CD8), а также содержание натулярных киллеров – (CD16); активированных Т и В-лимфоцитов, имеющих рецепторы к ИЛ-2 - (CD25), активированных лимфоцитов, имеющих молекулу межклеточной адгезии - (CD54); и лимфоцитов, с рецептором для FasL – Fas - лиганда, индуцирующего апоптоз клеток - (CD95). Гуморальное звено иммунитета оценивали по относительному и абсолютному содержанию В-лимфоцитов - (CD 22), концентрации иммуноглобулинов класса A,M,G в сыворотке крови, последние исследовали методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, с помощью иммунодиффузионных планшетов производства «Реафарм» (Москва). Сравнение показателей клеточного звена иммунитета внутри групп и между группами производили, используя абсолютные значения (количество клеток в 1 мкл.) Для оценки фагоцитарного звена иммунной системы определяли количественные показатели фагоцитоза (фагоцитарный показатель и фагоцитарное число) с использованием частиц латекса (латекс для фагоцитоза 1,5 мкм., производства хим. компании «Реакомплекс» Чита). Состояние кислородозависимых механизмов бактерицидности оценивали в НСТ – тесте (спонтанный и активированный показатели, фагоцитарный резерв клеток) спetroфотометрическим методом.

Результаты исследований обрабатывали на компьютере с использованием пакета прикладной программы Statistica Exel 2000. Определяли среднюю арифметическую вариационного ряда (M), среднее квадратическое отклонение ($\pm \sigma$); среднюю ошибку средней арифметической ($\pm m$). Достоверность различий параметров определяли по критерию Стьюдента (t).

Результаты исследования: При оценке иммунного статуса нами было отмечено варьирование его показателей как до, так и после аортокоронарного шунтирования.

В группе больных с гладким течением послеоперационного периода, непосредственно перед операцией, отмечено напряжение как клеточного, так и гуморального иммунитета. Нами установлена тенденция к повышению общего количества лимфоцитов и CD8, незначительному снижению CD3 и CD4 клеток, достоверному увеличению CD16, CD25, а также клеток с рецептором к FasL (CD95) и снижению CD54, по сравнению с показателями здоровых доноров. При этом величина иммунорегуляторного индекса (ИРИ) была ниже нормы ($p<0,01$), что указывает на дисбаланс в системе клеточного звена иммунной системы. Нарушений количественных показателей фагоцитоза (ФП и ФЧ) зафиксировано не было. Данные НСТ теста констатировали повышение спонтанного ($45,92 \pm 2,07$ ед. опт. пл. против $28,07 \pm 2,54$ ед. опт. пл. у здоровых, $p<0,05$), и активированного ($46,07 \pm 2,29$

ед. опт. пл. против $36,15 \pm 1,27$ ед. опт. пл. соответственно, $p > 0,05$) показателей состояния кислородозависимых механизмов бактерицидности, при одновременном снижении фагоцитарного резерва нейтрофилов $1,01 \pm 0,01$ против $1,30 \pm 0,08$ у здоровых ($p < 0,01$), что свидетельствует об истощении их резервных возможностей. При оценке состояния гуморального звена иммунитета выявлены значительные отклонения показателей от нормальных величин. До операции зафиксировано достоверное повышение В-лимфоцитов. При этом отмечалось снижение функциональной активности В-клеток и выраженное уменьшение продукции ими иммуноглобулинов Ig M и IgG.

В послеоперационном периоде у больных без осложнений большинство показателей иммунного статуса также достоверно превышали соответствующие величины здоровых доноров. Однако регистрировалась тенденция к постепенному уменьшению напряженности иммунной системы. Отмечалось снижение общего числа лимфоцитов, CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, сохранялся низкий уровень CD54 клеток, зафиксировано достоверное уменьшение CD95 клеток, по сравнению с дооперационным уровнем. Особенно следует отметить достоверное увеличение иммунорегуляторного индекса ($p < 0,05$) по сравнению с его уровнем до операции и тенденцию к нормализации показателей фагоцитарной активности по НСТ тесту. Зафиксировано снижение CD22 – клеток и нарастание уровня IgG и IgM, однако не достигающее контрольных показателей. При этом уровень Ig A незначительно превышал показатели здоровых людей.

При оценке показателей иммунного статуса перед операцией реваскуляризации миокарда у больных с послеоперационными гнойно-септическими осложнениями, выявлены несколько иные закономерности. В этой группе регистрировалось уменьшение абсолютного числа лимфоцитов, что приводило к уменьшению абсолютного уровня CD3 и, особенно, CD4 клеток, более выраженному, чем у больных 1 группы ($p < 0,05$). Как и в группе без осложнений, регистрировалось снижение уровня CD54. В то же время, отмечалось увеличение содержания: CD8, достоверное увеличение CD16, CD95 ($p < 0,01$) и CD25 – клеток ($p < 0,05$), по сравнению со здоровой группой. Причем, абсолютный уровень CD8 и CD95 был незначительно ниже, а уровень CD16 и CD54 клеток, напротив, выше показателей в группе без осложнений. Было характерно снижение ИРИ по сравнению с группой с гладким течением послеоперационного периода ($p < 0,05$) и здоровыми донорами ($p < 0,01$). Показатели спонтанного и активированного НСТ-теста, хотя и превышали уровень контрольной группы, но были несколько ниже показателей больных 1 группы ($40,18 \pm 2,83$ и $40,27 \pm 3,70$, против $45,92 \pm 2,07$ и $46,07 \pm 2,29$ соответственно), при этом величина фагоцитарного резерва в группах была одинакова ($1,00 \pm 0,01$ против $1,01 \pm 0,07$). При анализе состояния гуморального звена иммунной системы зафиксировано увеличение уровней В-лимфоцитов (CD 22), IgM и IgA, как по сравнению с показателями больных без осложнений, так и здоровой группой и снижение IgG, по сравнению с группой

1, и достоверное снижение последних по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$)

Мониторинг показателей иммунного статуса у пациентов с послеоперационными осложнениями (2 группа) позволял установить сохранение, а по ряду показателей – даже углубление дисрегуляции в работе иммунной системы у данной группы больных. Отмечался лейкоцитоз, уровень CD3 практически не изменился по сравнению с дооперационным уровнем, сохранялась тенденция к уменьшению Т-хеллеров и снижению абсолютного уровня CD8 клеток. Уровень CD16, хотя и снижался, но при этом все еще оставался высоким по сравнению с контрольной группой практически здоровых доноров. ИРИ, по сравнению с дооперационным уровнем имел незначительную тенденцию к повышению, но также был достоверно ниже уровня здоровых людей. В отличие от показателей больных с гладким течением послеоперационного периода, не уменьшалось, а происходило достоверное нарастание клеток в состоянии активации (CD25 и CD54), а также клеток с рецептором к FasL (CD95). Учитывая, что для реализации иммунного ответа имеет значение не только количество иммунокомпетентных клеток разной специфичности, но и их соотношение, представлялось важным изучить отношение исследуемых маркеров активации и апоптоза.

В обеих группах больных до операции показатели отношения CD25/CD95 были значительно ниже контрольного уровня, при этом незначительно отличались между собой (в группе без осложнений $0,95 \pm 0,05$, в группе с осложнениями $1,00 \pm 0,07$, против $7,8 \pm 3,12$ в контрольной группе). После операции происходило постепенное нарастание данного показателя в группе больных без осложнений, а во 2 группе больных наоборот отмечалось его снижение ($1,3 \pm 0,16$ в 1 группе, против $0,87 \pm 0,06$ во 2 группе). Отношение CD54/CD95 до операции в группе без осложнений было ниже контрольного уровня и уровня в группе сравнения ($0,56 \pm 0,08$ против $1,07 \pm 0,24$ и $1,10 \pm 0,17$ соответственно). После операции происходило нарастание данного отношения в группе без осложнений, а в группе пациентов с осложнениями его величина снижалась ($1,28 \pm 0,14$ в 1 группе, против $0,95 \pm 0,12$ во 2 группе). Таким образом, в динамике послеоперационного периода зафиксировано снижение отношения CD25/CD95; CD54/CD95 у группы больных с осложнениями, в отличие от группы больных без осложнений, где происходит его нарастание. Это может свидетельствовать о превалировании процессов апоптоза над процессами активации и приводить к гибели преимущественно CD4-лимфоцитов в группе больных с послеоперационными осложнениями. При оценке функции гуморального звена иммунитета зарегистрировано, что достоверно нарастало абсолютное число В-лимфоцитов: их уровень был достоверно выше, чем до операции ($p < 0,01$), выше послеоперационного уровня в группе без осложнений ($p < 0,05$) и уровня здоровых доноров ($p < 0,01$), однако на этом фоне установлено снижение количества IgG в сыворотке крови по сравнению с группой больных без осложнений и контрольной группой ($p < 0,01$). Зафиксировано снижение функциональной активности фагоцитов: досто-

верно снижался процент фагоцитирующих нейтрофилов по сравнению с обеими группами ($p<0,05$), наблюдалась тенденция к уменьшению фагоцитарного числа. В НСТ тесте выявлена тенденция к повышению активированного показателя ($45,33 \pm 4,62$ ед. опт. пл.) по сравнению с дооперационным уровнем ($40,27 \pm 3,70$ ед. опт. пл.) и послеоперационным уровнем у больных 1 группы ($42,91 \pm 3,14$ ед. опт. пл.). Наметилась тенденция и к увеличению фагоцитарного резерва по сравнению с дооперационным уровнем ($1,06 \pm 0,03$ против $1,01 \pm 0,07$ соответственно).

Заключение: Результаты исследования показали, что у кардио-хирургических пациентов уже непосредственно перед операцией имеются изменения в составе иммунокомпетентных клеток, что отражает напряженность работы системы иммунитета, а именно, активацию цитотоксических механизмов её реагирования, и готовность клеток к апоптотическим сигналам. Истошаются резервные возможности механизмов кислородзависимой бактерицидности фагоцитирующих клеток. Имеет место дисбаланс в работе гуморального звена, проявляющийся в снижении IgG, на фоне увеличения В-лимфоцитов. При ретроспективном анализе иммунного статуса у больных с гнойно-септическими осложнениями до операции отмечены наиболее выраженные изменения в работе клеточного и гуморального звеньев иммунитета, заключающиеся: в снижении абсолютного количества лимфоцитов, CD3, CD4 – клеток, в более выраженному снижении ИРИ и уровня Ig G, при сравнении с группой без осложнений. Указанные изменения иммунного статуса кардиохирургических пациентов, усугубляющиеся влиянием оперативного вмешательства, могут приводить, при воздействии дополнительной антигенной нагрузки, к развитию гнойно-септических осложнений. Наше исследование показало, что в случае развития осложнений, восстановления клеточного состава иммунной системы не происходит, при этом, наоборот усугубляется напряжение иммунной системы, что проявляется в увеличении уровня натуральных киллеров, клеток с рецепторами к активационным молекулам. Увеличение клеток с рецептором к молекуле апоптоза объясняет более значительное уменьшение Т-хеллеров у пациентов с осложнениями, в результате вероятного ухода клеток в апоптоз. Продолжающийся дисбаланс в работе гуморального звена иммунитета у больных с осложнениями ведет к нарушению элиминации патогена из организма.

Вышеуказанные изменения в системе иммунитета у кардиохирургических пациентов требуют дополнительного выявления факторов риска возникновения послеоперационных осложнений и профилактического назначения иммунотропной терапии.

Выводы:

- У пациентов с АКШ без развития послеоперационных осложнений, до операции, выявляется напряжение как клеточного, так и гуморального звена иммунной системы, проявляющееся: увеличением абсолютных значений Т-цитотоксических клеток, В-лимфоцитов, натуральных киллеров, клеток с рецепторами к молекулам адгезии и к IL - 2; снижением иммунорегуляторного индекса на фоне повышения готовности иммунокомпетентных клеток к апоптозу;

истощением кислородзависимых механизмов бактерицидности фагоцитов. В послеоперационном периоде зафиксирована тенденция к уменьшению напряженности и нормализации работы иммунной системы.

- В группе больных с послеоперационными гнойно-септическими осложнениями уже до операции отмечено уменьшение абсолютного количества лимфоцитов, CD3, CD4 – клеток, более выраженное снижение иммунорегуляторного индекса и уровня Ig G. После операции указанные нарушения становятся более выражеными, не происходит снижения напряженности иммунной системы, при этом возрастает готовность клеток к апоптозу.

- Выявленные нарушения позволяют прогнозировать развитие осложнений и требуют проведения иммунокоррекции.

ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНЬЮ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРОНАРНОГО РУСЛА ПЕРЕД ПРОВЕДЕНИЕМ ОПЕРАЦИИ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Турмова Е.П., Силаев А.А. *,

Волков В.В. *, Маркелова Е.В., Андреев Д.Б.*.

Филиал ГУНИИКИ Дальневосточного научного центра СО РАМН, Владивосток

*Филиал ГУНИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН, Владивосток

ГОУ ВПО Владивостокский Государственный Медицинский Университет

Доказано, что атеросклероз является следствием хронического воспаления сосудистой стенки, подобного реакции гиперчувствительности замедленного типа. многими авторами отмечено, что у больных со стенокардией претерпевает изменения цитокиновый профиль: отмечается увеличение уровней провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , а у больных с гемодинамическим выраженным стенозами – снижение интерлейкина-2. Известно, что провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1, ИЛ-12, ИЛ-6, ИЛ-8, IFN- γ , TNF- α запускают и формируют воспалительную реакцию, обеспечивая неспецифическую противоинфекционную защиту, эффективность детоксикационной функции лимфоидного аппарата, стимулируют развитие специфического иммунного ответа и процессы репарации в поврежденных тканях. При этом чрезмерная активность провоспалительных цитокинов может привести к развитию тяжелых септических состояний, шоку и органной недостаточности, а недостаточность их продукции, в результате включения механизмов негативного контроля системной воспалительной реакции (провоспалительные цитокины, глюкокортикоиды), приводят к иммуносупрессии и осложненному течению хирургической инфекции. Однако в литературе недостаточно данных, характеризующих состояние иммунной системы пациентов с тяжелой степенью ишемической болезни сердца непосредственно перед операцией АКШ. Стressовое воздействие, обусловленное предстоящей операцией, не может не отразиться на работе иммун-