

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Силаев А.А.¹, Турмова Е.П.², Волков В.В.¹, Маркелова Е.В.³, Андреев Д.Б.¹

Филиал НИИ кардиологии Дальневосточного научного центра СО РАМН²; филиал НИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН¹ Владивостокский государственный медицинский университет³.

Резюме

У 51 пациента изучали иммунный статус до и после проведения аортокоронарного шунтирования (АКШ). Пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа — без осложнений в течение послеоперационного периода — 23 больных (45,5%); 2 группа — с послеоперационной инфекционно-воспалительной патологией — 28 больных (54,5 %). В результате проведенного исследования выявлено: у кардиохирургических больных имелись отклонения в составе иммунокомпетентных клеток, отражающие напряженность работы системы иммунитета. Снижалась и функциональная активность клеток, имел место дисбаланс в состоянии гуморального иммунитета. У больных с гнойно-септическими осложнениями до операции данные нарушения были более выражены, а после операции отмечалось усугубление выявленных нарушений. Отклонения в иммунном статусе у кардиохирургических пациентов являются неотъемлемым звеном патогенеза и требуют дополнительного выявления факторов риска возникновения послеоперационных осложнений и профилактического назначения иммуностимулирующей терапии.

Ключевые слова: аорто-коронарное шунтирование, гнойно-септические осложнения, иммунный статус, гуморальный иммунитет, отклонения.

Общепризнано, что оперативное вмешательство, особенно с использованием искусственного кровообращения, 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 [1,2,3,4,5,6]. Однако, нельзя не отметить вариабельность значений, характеризующих различные параметры иммунитета у кардиохирургических пациентов [1, 4]. 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 иммунокорректирующей 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, медиа-стиниты, перикардиты, нагноение послеоперационной раны) — 28 больных (54,5 %). Все пациенты получали плановую терапию, включающую антибиотики широкого спектра действия, инфузионную 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 использовали метод световой микроскопии с использованием моноклональных антител производства НПЦ «Медбиоспектр» (Россия) к дифференцировочным и активационным маркерам, меченных FITC, докрашенных диаминобензидином. 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 натуральных 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 А, М, G в сыворотке крови; последние исследо-

Таблица 1

Состояние иммунного статуса у кардиохирургических больных без послеоперационных осложнений (1 группа).

Показатели $M \pm m$	До операции (n=23)		После операции (n=23)		Здоровые доноры (n=20)	
	%	Абс. кл/мкл	%	Абс. кл/мкл	%	Абс. кл/мкл
Лейкоциты	8,03±0,76*	9,61±0,64**	6,45±0,03			
Лимфоциты	29,89±3,19	2,22± 0,23	23,90± 2,51	2,10± 0,17	30,9±1,20	1,99± 0,19
CD 3	59,93±3,64	1,24± 0,12	55,00± 4,46	1,11± 0,10	66,9±2,41	1,33± 0,07
CD 4	32,81±2,27	0,76± 0,12	34,12± 3,75	0,67± 0,07	38,90±1,52	0,77± 0,04
CD 8	31,00±2,84	0,69± 0,08	29,42± 5,87	0,64± 0,12	28,00±2,00	0,55± 0,03
CD 4/CD 8	1,05±0,02**..!!		1,15±0,01**.		1,4±0,2	
CD16	32,26±4,16	0,60± 0,09**	27,62± 4,21	0,54± 0,10*	14,00±0,2	0,27± 0,001
CD22	27,00±3,79	0,50± 0,08**	25,55± 4,34	0,48± 0,06**.	7,32±1,53	0,14± 0,003
CD25	27,00±3,22	0,57± 0,09**	30,37± 4,68	0,52± 0,11**.	2,7±0,0,3	0,05± 0,002
CD54	27,80±3,74	0,54± 0,08**	26,00± 4,69	0,50± 0,08*.	35,13 ±2,16	0,70±0,01
CD95	31,25±3,80	0,60± 0,07**	21,14± 3,56	0,39± 0,04**.. !!	2,51±0,35	0,04±0,003
ФП (%)	69,10±4,26		67,50±4,30.		72,20±2,36	
ФЧ (ч.л.)	6,87±0,38		7,67±1,48		8,32±1,45	
НСТ сп.(ед. опт. пл.)	45,92±2,07 *		41,70±2,68		28,07±2,54	
НСТ сп.(ед. опт. пл.)	46,07±2,29		42,91±3,14		36,15±1,27	
НСТ-фагоцитарный резерв	1,01±0,01		1,07±0,03!		1,30±0,08	
Ig G (г/л)	6,82±0,58*.		7,25±0,34..		10,58±1,42	
Ig M (г/л)	1,14±0,22		1,43±0,28		1,83±0,24	
Ig A (г/л)	1,94±0,41		2,45±0,53		1,92±0,22	

Примечание: * - здесь и далее - различие статистически достоверно по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ** - различие статистически достоверно по сравнению с контролем ($p < 0,01$); · - различие статистически достоверно по сравнению с группой 2 ($p < 0,05$); .. - различие статистически достоверно по сравнению с группой 2 ($p < 0,01$); ! - различие статистически достоверно между до и послеоперационными значениями ($p < 0,05$), !! - различие статистически достоверно между до и послеоперационными значениями ($p < 0,01$).

вали методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, с помощью иммунодиффузионных планшетов производства «Риафарм» (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 компании «Реакомплекс», Чита). Состояние кислородо-зависимых механизмов бактерицидности оценивали в НСТ-тесте (спонтанный и активированный показатели, фагоцитарный резерв клеток) спектрофотометрическим методом.

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

Результаты исследования

При оценке иммунного статуса нами было отмечено варьирование его показателей как до, так и после

аорто-коронарного шунтирования. Исходя из этого, больные были распределены на 2 группы, как было отмечено выше.

В группе больных с благоприятным течением послеоперационного периода непосредственно перед операцией отмечено напряжение как клеточного, так и гуморального иммунитета (табл. 1).

Нами установлена тенденция к повышению общего количества лимфоцитов и CD8, незначительному понижению 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±2,07 ед. опт. пл. против 28,07±2,54 ед. опт. пл. у здоровых, при $p < 0,05$) и активированного (46,07±2,29 ед. опт. пл. против 36,15±1,27 ед. опт. пл. у здоровых, $p > 0,05$) показателей состояния кислородозависимых механизмов бактерицидности при одновременном снижении фагоцитарного резерва нейтрофилов (1,01±0,01 против 1,30±0,08 у здоровых, $p < 0,01$), что свидетельствует об истощении их резервных возможностей.

Таблица 2

Состояние иммунного статуса у кардиохирургических больных с послеоперационными осложнениями (2 группа).

Показатели	До операции (n=28)		После операции (n=28)		Здоровые доноры (n=30)	
	%	Абс. кл/мкл	%	Абс. кл/мкл	%	Абс. кл/мкл
Лейкоциты	6,86±0,43		11,38±0,9**!!		6,45±0,06	
Лимфоциты	24,05±1,96	1,63± 0,15	16,41± 1,82	1,93±0,22	30,90± 1,20	1,99± 0,19
CD 3	67,08±3,12	1,08± 0,11	61,12± 4,64	1,10±0,13	66,91± 2,41	1,33± 0,07
CD 4	40,85±3,41	0,62± 0,06*	32,85± 3,42	0,57±0,07*	38,90± 1,52	0,77± 0,04
CD 8	38,04±3,84	0,62± 0,08	31,54± 4,34	0,51±0,08	28,00± 2,00	0,55± 0,03
CD 4/CD 8	1,00±0,02**		1,1±0,01**		1,4±0,2	
CD16	44,90±4,54	0,76± 0,13**	34,13± 5,68	0,62±0,14**	14,00± 0,2	0,27± 0,001
CD22	36,40±3,18	0,57± 0,07**	35,44± 5,05	0,76±0,11**!!	7,32± 1,53	0,14± 0,003
CD25	35,60±1,07	0,56± 0,10**	40,00± 4,31	0,79 ±0,11**!	2,7±0,3	0,05± 0,002
CD54	39,53±1,81	0,62± 0,06	42,00± 3,42	0,78±0,09!	35,13 ±2,16	0,70± 0,01
CD95	35,00±3,42	0,56± 0,08**	45,57± 4,62	0,72±0,02**!!	2,51±0,35	0,04±0,003
ФП (%)	65,65±6,31		50,38±5,64*		72,20± 2,36	
ФЧ (ч. л.)	6,43±1,22		5,66±3,05		8,32±1,45	
НСТ сп.(ед. опт. пл.)	40,18±2,83*		40,33±5,48*		28,07± 2,42.	
НСТ акт.(ед. опт. пл.)	40,27±3,70		45,33±4,62		36,15± 1,74	
НСТ-фагоцитарный резерв	1,01±0,07		1,06±0,03		1,30±0,08	
Ig G (г/л)	5,08±0,41**		4,39±0,38**		10,58± 1,42	
Ig M (г/л)	1,96±0,47		1,34±0,34		1,83±0,24	
Ig A (г/л)	2,47±0,49		2,02±0,44		1,92±0,22	

Примечание: * - здесь и далее - различие статистически достоверно по сравнению с контролем ($p<0,05$); ** - различие статистически достоверно по сравнению с контролем ($p<0,01$); - - различие статистически достоверно по сравнению с группой 2 ($p<0,05$); -- - различие статистически достоверно по сравнению с группой 2 ($p<0,01$); ! - различие статистически достоверно между до и послеоперационными значениями ($p<0,05$); !! - различие статистически достоверно между до и послеоперационными значениями ($p<0,01$).

При оценке состояния гуморального звена иммунитета выявлены значительные отклонения показателей от нормальных величин (табл.1). 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 ($p<0,01$) и тенденцию к нормализации показателей фагоцитарной активности по НСТ тесту. Зафиксировано снижение CD22 клеток и нарастание уровня IgG и IgM, 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 ослож-

нениями 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 группы без осложнений. Было характерно снижение ИРИ по сравнению с группой с благоприятным 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 ($40,18\pm2,83$ и $40,27\pm3,70$, против $45,92\pm2,07$ и $46,07\pm2,29$, соответственно), при этом фагоцитарный резерв между группами отличий не имел ($1,00\pm0,01$ против $1,01\pm0,07$). 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; снижение IgG, по срав-

нению с группой 1, и достоверное снижение последних по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$) (табл.2).

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 изменялся по сравнению с дооперационным уровнем, сохранялась тенденция к уменьшению Т-хелперов 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 благоприятным 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 маркёров активации и апоптоза.

В обеих группах больных до операции показатели отношения CD25/CD95 были значительно ниже контрольного уровня, при этом незначительно отличаясь между собой (в группе без осложнений - $0,95 \pm 0,05$, в группе с осложнениями - $1,00 \pm 0,07$, против $17,8 \pm 3,12$ в контрольной группе). После операции происходило постепенное нарастание данного показателя в группе больных без осложнений, а во 2-й группе больных, наоборот, отмечалось его снижение ($1,3 \pm 0,16$ в 1-й группе, против $0,87 \pm 0,06$ во 2-й 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 $1,10 \pm 0,17$). 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-й группе, против $0,95 \pm 0,12$ во 2-й группе). Таким образом, в динамике послеоперационного периода зафиксировано снижение отношения CD25/CD95 и 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 им-

мунитета 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: достоверно 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-й группы ($42,91 \pm 3,14$ ед. опт. пл.). Наметила 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 кардиохирургических 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. Истощаются резервные возможности 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 выраженном снижении ИРИ и уровня Ig G при сравнении с группой без осложнений. Указанные изменения иммунного статуса кардиохирургических пациентов, усугубляющиеся под 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-хелперов у пациентов с осложнениями.

ми 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 больных требуют дополнительного выявления факторов риска послеоперационных осложнений и профилактического назначения иммуотропной терапии.

Выводы

1. У пациентов с АКШ без гнойно-септических осложнений еще до операции выявляется напряжение иммунной системы, характеризующееся увеличением абсолютного количества лимфоцитов, преимущественно за счет преобладания CD8, CD22, CD25-клеток, а также увеличением CD16 и CD95-клеток. Отмечено снижение фагоцитарного резерва нейтро-

филов, выявлен дисбаланс в работе гуморального иммунитета, проявляющийся снижением функциональной активности В-клеток при увеличении их абсолютного числа. При этом, после операции у них отмечается тенденция к уменьшению напряженности и нормализации работы иммунной системы.

2. В группе больных с послеоперационными гнойно-септическими осложнениями выявлен комбинированный тип нарушений иммунной системы, как до, так и после АКШ, проявляющийся расстройством количественного состава клеток иммунной системы, их функциональной активности, причем, в отличие от группы без осложнений, данные нарушения более выражены и характеризуются усугублением в послеоперационном периоде.

3. Нарушения иммунного статуса у кардиохирургических больных определяют необходимость профилактического назначения иммуотропной терапии.

Литература

1. Винницкий Л.И., Миронова Е.В., Бунятян К.А. // Анестезиология и реаниматология. — 2000. — № 5. — С.46-49.
2. Карсонова М.И., Юдина Т.И., Пинегин Б.В. // Мед. иммунология — 1999. — № 1-2. — С. 119- 131.
3. Клячкин Л.М., Ермолин С.М., Караулов А.В. // Internat.J. Immunorehabil. — 1999. — N 11. — P. 156-163.
4. Allentdorf J.D., Bessler M., Wielan R.I. // Surg. Endosc. — 1997. — V. 11. — P. 427-430.
5. Hiesmayr M.J., Spittler A., Lawssnigg A. // Clin. and Exp. Immunol. — 1999. — V. 115. — № 2. — P. 315-323.
6. Mizutani Y., Okada Y., Yoshida O. // Int. J. Urol.- 1996. — V. 3. — P. 426-434.

Abstract

In 51 patients, immune status was assessed before and after coronary aortic bypass graft (CABG) surgery. All participants were divided into two groups: Group I — without any post-surgery complications (n=23; 45,5%); Group II — with post-surgery infectious and inflammatory pathology (n=28, 54,5%). Cardiosurgery patients had immunocompetent cell distribution pathology, which reflected immunity status abnormalities. Functional cell activity was decreased, humoral immunity was disturbed. In patients with septic complications, these disturbances were observed before CABG, and after the intervention they were even more severe. Immune disturbances in cardiosurgery patients play an important part in post-operative complications' pathogenesis, and ask for active risk factor screening, as well as for preventive immunotropic therapy.

Keywords: Coronary aortic bypass graft surgery, septic complications, immune status, humoral immunity, abnormalities.

Поступила 7/12-2004