

УДК 612.017.1+617.55-002-089

© А.Л. Потапов, 2012.

## СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА ПОСЛЕ ОБЪЕМНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

**А. Л. Потапов***ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь*

### STATUS OF ANTIENDOTOXIN IMMUNITY CELLULAR FACTORS FOLLOWING EXTENSIVE SURGICAL INTERVENTIONS

**A. L. Potapov**

#### SUMMARY

Status of antiendotoxin immunity cellular factors was investigated in 15 patients who experienced extensive surgical interventions. Decrease of leukocyte endotoxinbinding potential along with decline in CD14-receptor expression by monocytes and granulocytes was identified in the early postoperative period. In addition, increase of CD3-, CD4- and CD22-lymphocyte count as well as increment in CD4/CD8 ratio were detected. Abovementioned changes are indicative of cell-mediated antiendotoxin immunity suppression and support the leading role of intestinal endotoxin in the development of systemic inflammatory response in the investigated group of patients.

### СТАН КЛІТИННИХ ФАКТОРІВ АНТИЕНДОТОКСИНОВОГО ІМУНІТЕТУ ПІСЛЯ ОБ'ЄМНИХ ХІРУРГІЧНИХ ВТРУЧАНЬ

**О. Л. Потапов**

#### РЕЗЮМЕ

У 15 пацієнтів після об'ємних абдомінальних операцій вивчений стан клітинних чинників антиендоксинового імунітету. Виявлено зменшення ендотоксинзв'язувального потенціалу лейкоцитів і зниження експресії рецептора CD14 моноцитами і гранулоцитами. Вміст CD3 - CD4 -, CD22 - лімфоцитів і співвідношення CD4/CD8 зросло. Вказані зміни свідчать про пригнічення клітинної ланки антиендоксинового імунітету і підтверджують провідну роль кишкового ендотоксину в розвитку системної запальної реакції у цієї категорії пацієнтів.

**Ключевые слова: хирургия, эндотоксин, иммунитет, воспаление.**

Антиендоксиновый иммунитет представлен гуморальными и клеточными факторами. В нашем предыдущем исследовании показано, что после объемных операций на органах брюшной полости и забрюшинного пространства в крови пациентов наблюдается снижение содержания антител к липополисахариду (ЛПС) грамотрицательных бактерий, не связанное с изменениями концентрации общих иммуноглобулинов и сопровождающееся значительным увеличением уровня С-реактивного протеина (СРП) [1]. Полученные данные позволили связать возникновение системной воспалительной реакции (СВР) после данного типа операций с транслокацией кишечного эндотоксина. Для окончательного подтверждения подобной концепции развития СВР в послеоперационном периоде необходимо изучение состояния клеточных механизмов антиендоксиновой защиты и путей реализации биологических эффектов ЛПС у данной категории пациентов.

Более ранняя попытка проведения подобного исследования дала противоречивые результаты. После объемных абдомінальних операцій обнаружено снижение способности плазмы крови пациентов свя-

зывать эндотоксин, но при этом не выявлены изменения уровня экспрессии моноцитами Toll-like-рецепторов 2 и 4 (TLR 2,4) [2]. На наш взгляд, авторы данного исследования не уделили достаточного внимания тому факту, что лейкоциты крови также обладают ЛПС-связывающим потенциалом, и что эндотоксин взаимодействует с TLR4 не непосредственно, а через систему рецепторов CD14.

Целью настоящего исследования является изучение состояния лейкоцитарного звена антиендоксинового иммунитета у пациентов после объемных хирургических вмешательств.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 15 пациентов, прооперированных в отделениях хирургии и проктологии КРУ «Клиническая больница им. Н.А. Семашко» в 2008 году. Были выполнены плановые объемные оперативные вмешательства на органах брюшной полости – панкреатодуоденальные резекции, гастрэктомии, резекции желудка, гемиколэктомии. Физиологический статус пациентов – ASA II-III. Ведение пациентов в периоперационном периоде осуществлялось с использованием классической доктрины –

тотальная внутривенная анестезия с миорелаксантами и ИВЛ, обезболивание на основе опиатов, периоперационное голодание.

Перед операцией, на 3 и 10 сутки послеоперационного периода в крови пациентов определяли ЛПС-связывающий потенциал моноцитов (mLPSfits) и гранулоцитов (gLPSfits), экспрессию рецептора CD14 на моноцитах (mCD14) и гранулоцитах (gCD14), процентное содержание CD3-, CD8-, CD4-, CD22-лимфоцитов, рассчитывали также соотношение CD4/CD8 (хелперно-супрессорный индекс). Указанные показатели определяли методом проточной лазерной цитофлуориметрии (проточный цитофлуориметр PAS-III фирмы Partec GmbH, Munster, Germany). Уровень экспрессии CD14 и LPSfits выражали в условных единицах флуоресценции, содержание CD3-, CD8-, CD4-

, CD22-лимфоцитов выражено в процентах.

Полученные результаты обработаны при помощи программы STATISTICA 6.0. Данные представлены в виде  $M \pm m$ . Статистическую значимость отличий оценивали с использованием непараметрического однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (ANOVA Friedman). Различия считали достоверными при уровне  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В послеоперационном периоде у обследованных пациентов выявлены существенные изменения эндотоксинсвязывающего потенциала и уровня экспрессии CD14 моноцитов и гранулоцитов, свидетельствующие об угнетении лейкоцитарного звена антиэндотоксинового иммунитета (таблица 1).

Таблица 1.

**Величина LPSfits (усл.ед.) и уровень экспрессии CD14 (усл.ед.) у обследованных пациентов**

Показатель	До операции	3 сутки	10 сутки	ANOVA Friedman
mLPSfits	2,50±0,09	1,85±0,13	2,07±0,09	$p < 0,001$
gLPSfits	0,92±0,03	0,81±0,03	0,84±0,02	$p < 0,001$
mCD14	41,55±2,63	36,34±2,28	33,57±2,38	$p < 0,05$
gCD14	1,02±0,03	0,92±0,04	0,85±0,04	$p < 0,001$

Величина mLPSfits и gLPSfits на 3 сутки после операции была ниже по сравнению с исходным показателем, к 10 суткам ее значение имело тенденцию к восстановлению. Уровень экспрессии CD14 на моноцитах и гранулоцитах также снижался в послеоперационном периоде, причем тенденция к его уменьшению сохранялась и на 10 сутки наблюдения.

При многих состояниях, способствующих увеличению поступления эндотоксина в кровоток, наблюдается угнетение функций клеточного и гуморального антиэндотоксинового иммунитета. Подобные изменения описаны при перитонитах, брюшном тифе, острых кишечных инфекциях, гнойных менингитах [3]. Анализ данных литературы и полученных результатов полностью подтверждает гипотезу, согласно которой бактериальная транслокация является ведущим механизмом развития СВР после объемных хирургических вмешательств. Поступление кишечного эндотоксина в кровоток истощает резервы связывания ЛПС иммунными клетками, что подтверждается снижением значений LPSfits на 3 сутки после операции.

Рецептор CD14 является главным белком, реагирующим с LPS и способствующим реализации иммунного ответа макроорганизма на эндотоксиновую агрессию [4]. Снижение его экспрессии также может быть связано с истощением данного механизма в ответ на увеличивающееся поступление эндотоксина во время операции и в раннем послеоперационном периоде. Уровень экспрессии CD14 имеет защитное значение.

Сообщается, что высокая концентрация CD14 предотвращала гибель экспериментальных животных в условиях критической эндотоксинемии [5]. Поэтому снижение его экспрессии также является свидетельством угнетения клеточного звена антиэндотоксинового иммунитета.

Истощение клеточных антиэндотоксиновых факторов не сопровождалось признаками угнетения клеточного иммунитета в целом. Наоборот, относительное содержание некоторых типов иммунных клеток даже возрастало (таблица 2).

Содержание Т-лимфоцитов (CD3) в послеоперационном периоде возрастало, что частично могло быть связано с увеличением количества Т-хелперов (CD4). Соответственно возрастал хелперно-супрессорный индекс (соотношение CD4/CD8), что свидетельствует об активации иммунных реакций. ЛПС грамотрицательных бактерий является мощным антигеном, поэтому выявленные изменения могут быть связаны с реакцией иммунных клеток на антигенную стимуляцию кишечным эндотоксином. Подтверждением данному факту служит значительное увеличение процентного содержания В-лимфоцитов (CD22), которое возрастало на 3 сутки после операции более чем в 2 раза. Известно, что ЛПС вызывает поликлональную активацию данного типа клеток [4].

Таким образом, в послеоперационном периоде у пациентов, перенесших обширные хирургические вмешательства, наблюдается угнетение всех звеньев антиэндотоксинового иммунитета.

Таблица 2

Содержание CD3-, CD8-, CD4-, CD22-лимфоцитов (%)  
и соотношение CD4/CD8 у обследованных пациентов

Показатель	До операции	3 сутки	10 сутки	ANOVA Friedman
CD3	57,74±2,92	63,92±1,68	66,53±2,41	p < 0,05
CD8	16,62±1,90	16,14±1,56	16,79±1,68	p=0,94
CD4	40,58±2,30	45,41±1,83	49,49±2,88	p < 0,05
CD4/CD8	2,97±0,40	3,23±0,37	3,35±0,37	p < 0,05
CD22	5,00±0,61	10,47±3,41	7,56±1,35	p < 0,005

Об этом свидетельствуют результаты настоящего и предыдущих исследований [1]. Подтверждается тот факт, что развитие СБР у данной категории пациентов связано с транслокацией эндотоксина кишечных бактерий. Его попадание в кровоток сопровождается снижением уровня анти-ЛПС-антител, а также истощением резервов связывания эндотоксина моноцитами и гранулоцитами, снижением экспрессии рецептора CD14 на мембранах указанных клеток. Полученные данные дают патогенетическое обоснование для разработки комплексной коррекции СБР у пациентов, оперируемых на органах брюшной полости и забрюшинного пространства. Они также свидетельствуют о том, что возникновение СБР и изменения антиэндотоксинового иммунитета тесно взаимосвязаны, и их коррекция должна проводиться параллельно.

#### ВЫВОДЫ

1. После объемных абдоминальных операций наблюдается угнетение клеточного звена антиэндотоксинового иммунитета, проявляющееся снижением ЛПС-связывающего потенциала лейкоцитов и уменьшением экспрессии рецептора CD14 моноцитами и гранулоцитами.

2. После операции у данной категории пациентов наблюдается увеличение относительного содержания CD3-, CD4-, CD22-лимфоцитов и увеличение соотношения CD4/CD8, что может быть реакцией иммунных клеток на антигенную стимуляцию кишеч-

ным эндотоксином.

3. Транслокация кишечного эндотоксина является ведущим механизмом развития СБР после объемных операций и связана с угнетением гуморальных и клеточных факторов антиэндотоксинового иммунитета.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Потапов А.Л. Патогенетическое обоснование комплексной коррекции синдрома системного воспалительного ответа в хирургии брюшной полости и забрюшинного пространства / А.Л. Потапов // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2010. – №4. – С.11-15.

2. Buttenschoen K. Effect of major abdominal surgery on endotoxin release and expression of Toll-like receptors 2/4 / K. Buttenschoen, M.E. Schneider, K. Utz [et al.] // Langenbecks Arch Surg. – 2009. – Vol.394, №2. – P.293-302.

3. Лиходед В.Г. Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника / В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко. – М.: «Медицина», 2007. – 216с.

4. Авдеева М.Г. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного ответа (обзор литературы) / М.Г. Авдеева, М.Г. Шубич // Клин. лаб. диагностика. – 2003. – №6. – С.3-9.

5. Мороз В.В. Сепсис: клинико-патофизиологические аспекты интенсивной терапии / В.В. Мороз, В.Н. Лукач, Е.М. Шифман [и др.]. – Петрозаводск, «ИнтелТек», 2004. – 291с.