

ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА В ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ ПАЦИЕНТОВ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Гребенюк В.В., Юсан Н.В.

ГОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия», г. Благовещенск

Резюме. Изучены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования у 100 пациентов с абдоминальным сепсисом. Наряду со стандартным комплексом лечебно-диагностических мероприятий всем больным проводилось иммунологическое исследование: определяли популяции и субпопуляции иммунокомпетентных клеток методом непрямой иммунофлуоресценции, иммуноглобулины основных классов и цитокины сыворотки крови методом иммуноферментного анализа. Отмечена четкая корреляционная связь значения соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов, уровня IL-1ra в сыворотке крови с тяжестью состояния больных с абдоминальным сепсисом и исходом заболевания. В связи с выявленными особенностями ИРИ и IL-1ra включены в предложенный нами способ прогнозирования вероятности летального исхода у больных с абдоминальным сепсисом.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, прогноз сепсиса, лимфоциты, иммунорегуляторный индекс, IL-1ra.

Grebenyuk V.V., Yusan N.V.

SIGNIFICANCE OF IMMUNE INDEXES IN SEVERITY EVALUATION IN THE PATIENTS WITH ABDOMINAL SEPSIS

Abstract. We have analyzed the results of combined clinical laboratory study in 100 patients, in whom abdominal sepsis was diagnosed. Along with a standard protocol of medical and diagnostic measures, all the patients underwent immunological examination, i.e., populations and subpopulations of immunocompetent cells were defined by indirect immunofluorescence method, immunoglobulins of main types, and serum cytokines were defined by means of immune-enzyme assay. Immunoregulatory index and levels of IL-1ra in blood serum significantly correlated with severe state and disease outcomes in the patients with abdominal sepsis. Due to such characteristic features, the $CD4^+/CD8^+$ ratio and IL-1ra level were included into a proposed list of parameters able to predict fatal outcome in the patients with abdominal sepsis. (*Med. Immunol.*, Vol. 12, N 3, pp 253-258)

Keywords: abdominal sepsis, sepsis prediction, lymphocytes, immune regulation index, IL-1ra.

Введение

Сравнительная оценка показателей иммунного статуса здоровых лиц и больных с тяжелым сепсисом выявила наличие у больных с сепсисом лабораторных признаков комбинированного Т-клеточно-моноцитарного иммунодефицита [5]. Иммунологические нарушения проявляются в виде снижения относительного количества

$CD3^+$ Т-клеток [6], снижается абсолютное количество Т-хелперов и уменьшаются значения иммунорегуляторного индекса ($< 1,0$). Также известно, что при сепсисе развивается системная воспалительная реакция (синдром системного воспалительного ответа – ССВО – SIRS) [1, 8]. Основными медиаторами ССВО являются провоспалительные цитокины, которые продуцируются макрофагами, нейтрофилами и Т-клетками в ответ на стимуляцию бактериальными антигенами [4, 9]. Для избежания избыточных проявлений системного воспаления вслед за ССВО в организме развивается компенсаторный противовоспалительный ответ (CARS), опосредованный продукцией противовоспалительных

Адрес для переписки:

Гребенюк В.В.

675000, Амурская область, г. Благовещенск,
ул. Кузнечная, 99, кв. 203.

E-mail: vvgrebenyuk@yandex.ru.

цитокинов [10,11]. При сбалансированном течении CARS подавляет системную воспалительную реакцию и приводит к восстановлению гомеостаза. В то же время при чрезмерной выраженности или пролонгированном течении CARS вызывает развитие глубокой иммунодепрессии, что в конечном итоге предопределяет летальный исход [4].

Целью нашего исследования явилось определение иммунологических показателей крови и уровня провоспалительного (IL-8) и противовоспалительного (IL-1ra) цитокинов в сыворотке крови и выявление зависимости между степенью выраженности изменений этих показателей и тяжестью состояния пациентов с абдоминальным сепсисом.

Материалы и методы

Изучены результаты комплексного клинко-лабораторного обследования у 100 пациентов с абдоминальным сепсисом (55 – с билиарным сепсисом при осложненной желчнокаменной болезни, 45 – при других локализациях очага инфекции в брюшной полости) в возрасте от 21 года до 93 лет (средний возраст $53 \pm 0,7$ года), из них 35 мужчин (35%) и 65 женщин (65%). Диагноз сепсис выставлен на основании «Стандартов классификации, диагностики и лечения хирур-

гического сепсиса» [2] и международных клинических рекомендаций [3].

Всем больным проводилась интенсивная терапия и оперативное лечение согласно современным рекомендациям по лечению сепсиса. Наряду со стандартным комплексом лечебно-диагностических мероприятий всем больным проводилось иммунологическое исследование: определение популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток с помощью моноклональных антител к поверхностным дифференцировочным антигенам методом непрямой иммунофлуоресценции, при этом использовали анти-CD-моноклональные антитела и флуоресцентную метку – ФИТЦ-меченные анти-мышинные антитела ООО «Сорбент». Окрашенные клетки анализировали при помощи проточного цитофлуориметра Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Иммуноглобулины основных классов и цитокины сыворотки крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест». Количественную оценку наблюдавшихся у больных тревожных и депрессивных расстройств осуществляли по шкале Zung W.K. (1980). Исследование проводили трехкратно: при поступлении пациентов в стационар, на 3 и 7-10 сутки после операции.

Все показатели проверены на нормальность согласно критериям Колмогорова–Смирнова, Лиллиефорса, Шапиро–Уилкса. Меры центральной

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОГРАММЫ У ПАЦИЕНТОВ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ В ДИНАМИКЕ

Показатели	При поступлении	3 сутки после операции	7-10 сутки после операции
Лимфоциты, в %	$15,3 \pm 0,32^*$	$16,7 \pm 0,41^{**}$	$13 \pm 1,07$
CD3 ⁺ T-клетки, в %	$31,4 \pm 1,7^*$	$35,2 \pm 1,4^{**}$	$29,8 \pm 0,97$
CD3 ⁺ T-клетки, абс.	$0,72 \pm 0,05^*$	$0,8 \pm 0,03^{**}$	$0,64 \pm 0,02$
CD19 ⁺ B-клетки, в %	$7,9 \pm 0,74^*$	$8,0 \pm 0,62^{**}$	$8,1 \pm 0,71$
CD19 ⁺ B-клетки, абс.	$0,09 \pm 0,001^*$	$0,1 \pm 0,01^{**}$	$0,1 \pm 0,01$
CD4 ⁺ T-клетки, в %	$23 \pm 0,73^*$	$24,1 \pm 0,64^{**}$	$22 \pm 0,62$
CD4 ⁺ T-клетки, абс.	$0,49 \pm 0,03^*$	$0,53 \pm 0,04^{**}$	$0,41 \pm 0,04$
CD8 ⁺ T-клетки, в %	$11,8 \pm 0,26^*$	$12,1 \pm 0,23^{**}$	$10,6 \pm 0,38$
CD8 ⁺ T-клетки, абс.	$0,4 \pm 0,02^*$	$0,52 \pm 0,01^{**}$	$0,38 \pm 0,03$
IgA, г/л	$1,74 \pm 0,06^*$ $1,06 \pm 0,02^*$	$1,89 \pm 0,04^{**}$ $1,09 \pm 0,02^{**}$	$1,95 \pm 0,04$ $1,24 \pm 0,03$
IgM, г/л	$0,98 \pm 0,04^*$ $1,0 \pm 0,06^*$	$1,0 \pm 0,04^{**}$ $1,23 \pm 0,02^{**}$	$1,0 \pm 0,03$ $1,29 \pm 0,03$
IgG, г/л	$7,38 \pm 0,54^*$ $8,42 \pm 0,82^*$	$8,3 \pm 0,61^{**}$ $9,1 \pm 0,84^{**}$	$8,9 \pm 0,48$ $9,8 \pm 0,52$

Примечания. * $p < 0,05$ – достоверность различий показателей при поступлении и на 3 сутки после операции;

** $p < 0,05$ – достоверность различий показателей на 3 сутки после операции и на 7-10 сутки после операции.

тенденции и рассеяния описаны в случае нормально распределенных признаков средним их значением (M) и средним квадратичным отклонением ($\pm\sigma$), а параметры, не имеющие нормального распределения — медианой (Me), нижним (LQ) и верхним квартилем (UQ). Проведен ранговый дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису и медианный тест, а также корреляционный анализ с применением рангового коэффициента корреляции Спирмена [5]. Статистическая обработка проводилась при помощи программы Statistica 6.0 for Windows. Уровень значимости P был принят равным 0,05.

Результаты и обсуждение

У всех больных независимо от тяжести, длительности и исхода заболевания на момент поступления был зарегистрирован вторичный иммунодефицит по смешанному типу. Выявлена значительная лимфопения преимущественно за счет снижения относительного и абсолютного количества $CD3^+$ Т-клеток, снижено количество как $CD4^+$ Т-клеток, так и $CD8^+$ Т-клеток. Отмечено снижение IgG до $7,38 \pm 0,54$ г/л у мужчин и $8,42 \pm 0,82$ г/л у женщин. На 3 сутки после операции у всех больных отмечено незначительное увеличение показателей Т-клеточного иммунитета и IgG в сыворотке крови, однако на 7–10 сутки зарегистрировано усугубление лимфопении по сравнению с исходным значением и более значительное уменьшение количества $CD3^+$ Т-клеток (табл. 1).

Изменения соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов и уровней цитокинов в сыворотке крови пациентов различались в зависимости от исхода заболевания. В связи с этим все пациенты разделены на 2 группы: 1 группа — выздоровевшие (63 человека), 2 группа — умершие (37 человек). На момент поступления в стационар у всех па-

циентов соотношение $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов было снижено в среднем до 1,9:1 ($p < 0,05$). В динамике у больных 2 группы происходило дальнейшее снижение соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов до минимального 1,2:1, во 2 группе увеличение соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов до нормы, а в некоторых случаях и выше, с максимальным значением 3:1.

В качестве нормальных показателей уровней цитокинов в сыворотке крови были приняты следующие значения: IL-8 — 30 пг/мл, IL-1ra — 50–1000 пг/мл.

Уровень IL-8 у больных 1 группы при поступлении незначительно превышал нормальный показатель — 31,45 пг/мл (LQ 18,75; UQ 42,5), на 3 и 7–10 сутки после операции уровень IL-8 в данной группе находился в пределах нормы: 21,35 пг/мл (LQ 12,2; UQ 27,7) и 10,8 пг/мл (LQ 4,35; UQ 14,05) соответственно. У больных 2 группы уровень IL-8 при поступлении более чем в 3 раза превышал нормальные показатели — 96,0 пг/мл (LQ 90,95; UQ 158,55), на 3 сутки после операции составил 36,85 пг/мл (LQ 18,75; UQ 45,05), а к 7–10 суткам снижался до нормальных значений — 16,95 пг/мл (LQ 13,75; UQ 27,1).

Уровень IL-1ra в 1 группе дооперационном периоде составил 2180,25 пг/мл (LQ 1291,0; UQ 2765,5), в послеоперационном периоде отмечено его снижение на 3 сутки до 1320,65 пг/мл (LQ 646,75; UQ 1630,25), на 7–10 сутки до нормальных значений — 488,1 пг/мл (LQ 297,75; UQ 659,3). У больных 2 группы уровень IL-1ra в дооперационном периоде уровень более чем в 3 раза превышал нормальный показатель — 3203,0 пг/мл (LQ 3117,45; UQ 3343,7), в послеоперационном периоде его уровень составил 2660,35 пг/мл (LQ 2227,0; UQ 2804,0) и 2051,0 пг/мл (LQ 1733,1; UQ 2342,0) на 3 и 7–10 сутки соответственно.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СООТНОШЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СО СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ И ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

	Ранговый дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису		Медианный тест		Ранговый коэффициент корреляции Спирмена		
	Критерий Краскела–Уоллиса	p	Хи-квадрат	p	Коэффициент Спирмена	t(N-2)	p
Соотношение $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов	9,194878	0,0101	8,437037	0,0147	0,721164	4,031754	0,001087
IL-1ra	8,181818	0,0167	7,638889	0,0219	0,904534	6,363961	0,000131

Примечание. p — уровень значимости; t(N-2) — критерий Стьюдента для выборки объемом больше 50, где N — численность выборки.

ТАБЛИЦА 3. СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Факторы риска прогрессирования хирургического сепсиса	I степень		II степень		III степень	
	Относительный риск летального исхода от 10 до 30%		Относительный риск летального исхода от 31 до 60%		Относительный риск летального исхода от 61 до 90%	
Возраст	Старше 65 лет	% 1,7	Старше 65 лет	% 1,7	Старше 65 лет	% 1,7
АД	Артериальная гипертензия (АД _{сисст} > 150 мм рт. ст.) или артериальная гипотензия (АД _{сисст} < 90 мм рт. ст.)	1,7	Артериальная гипертензия (АД _{сисст} > 150 мм рт. ст.) или артериальная гипотензия (АД _{сисст} < 90 мм рт. ст.)	1,7	Артериальная гипертензия (АД _{сисст} > 150 мм рт. ст.) или артериальная гипотензия (АД _{сисст} < 90 мм рт. ст.)	1,7
Гиперфибриногенемия	+	1,7	+	1,7	+	1,7
Протеинурия	+	1,7	+	1,7	+	1,7
Лейкоцитурия	+	1,7	+	1,7	+	1,7
Снижение гематокрита, %	до 0,3	1,7	0,26-0,3	3,2	≤ 0,25	4,76
Лейкоцитоз, х 10 ⁹ /л	до 11	1,7	12-20	3,2	> 20	4,76
Юные нейтрофилы в периферической крови, %	1%	1,7	> 1%	3,2	> 1%	3,2
Повышение СОЭ, мм/ч	До 30	1,7	> 30	3,2	> 30	3,2
Соотношение CD4 ⁺ /CD8 ⁺ лимфоцитов	> 2:1	1,7	2-1,5:1	3,2	< 1,5:1	4,76
Изменение психического статуса (по шкале Zung W.K., 1980)	от 51 до 59 баллов – незначительное, но отчетливое снижение настроения	1,7	от 60 до 69 баллов – значительное снижение настроения	3,2	выше 70 баллов – глубокое снижение настроения (субдепрессия или депрессия)	4,76
Высокий уровень РА ИЛ – 1, пг/мл	2000-2500 пг/мл	1,7	2500-3000 пг/мл	3,2	> 3000 пг/мл	4,76
Анемия			+	3,2	+	3,2
П/я или с/я сдвиг, %			П/я до 20% или с/я 73-80%	3,2	П/я > 20% или с/я > 80%	4,76
Гипергликемия, ммоль/л			До 15	3,2	> 15	4,76

Таблица 3 (окончание)

Факторы риска прогрессирования хирургического сепсиса	I степень		II степень		III степень	
	Относительный риск летального исхода от 10 до 30%		Относительный риск летального исхода от 31 до 60%		Относительный риск летального исхода от 61 до 90%	
Возраст	Старше 65 лет	% 1,7	Старше 65 лет	% 1,7	Старше 65 лет	% 1,7
Лимфоцитопения, %			10-15	3,2	< 10	4,76
Гематурия			микрогематурия	3,2	макрогематурия	4,76
Изменение процессов проводимости по ЭКГ			замедление процессов проводимости	3,2	блокада ножек пучка Гиса	4,76
Миелоциты в периферической крови					+	4,76
Интраоперационные факторы					1. Парапанкреатический абсцесс. 2. Забрюшинная флегмона. 3. Признаки гнойного холангита. 4. Признаки разлитого гнойного перитонита с тенденцией к формированию множественных абсцессов в брюшной полости.	4,76
Билирубин, мкмоль/л					> 100 мкмоль/л	4,76

Из всех иммунологических показателей отмечена четкая корреляционная связь значения соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов, уровня IL-1ra в сыворотке крови с тяжестью состояния больных и исходом заболевания. Нами определена четкая корреляция между значением соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов $\geq 2:1$ и выздоровлением и значением соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов $\leq 1,5:1$ и летальным исходом. Уровень IL-1ra коррелировал со степенью тяжести сепсиса: уровень 2000-3000 пг/мл в сыворотке крови больных коррелировал с тяжелым сепсисом, а более 3000 пг/мл — с септическим шоком и летальным исходом на фоне адекватной интенсивной терапии и оперативного лечения (табл. 2).

В связи с выявленными особенностями соотношение $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов и IL-1ra включены в предложенный нами способ прогнозирования вероятности летального исхода у больных с абдоминальным сепсисом (приоритетная справка № 2008144265/14 (057694) от 7.11.2008 /

Гребенюк В.В., Юсан Н.В., Назаров А.А., Макарова Г.А.) (табл. 3). Способ осуществляется следующим образом. У каждого больного с абдоминальным сепсисом на момент поступления и в ходе динамического наблюдения и лечения необходимо определить предложенные (табл. 3) клинические, интраоперационные и лабораторные показатели и по таблице рассчитать процент относительной вероятности летального исхода и определить степень тяжести состояния больного.

Исходя из вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1. Одной из основных особенностей прогрессирования абдоминального сепсиса является выраженная иммунодепрессия.

2. Уровень IL-1ra достоверно коррелирует со степенью тяжести абдоминального и частотой летальных исходов на фоне адекватной интенсивной терапии и оперативного лечения.

3. Определение показателей иммунитета следует рассматривать как актуальный аспект

в оценке тяжести состояния пациентов с абдоминальным сепсисом, способствующее своевременному проведению иммунокорректирующей терапии.

Список литературы

1. Белобородова Н.В., Дмитриева И.Б., Черневская Е.А. Сепсис — индуцированный иммунопаралич: патогенез, диагностика и возможные пути коррекции // Анестезиология и реаниматология. — 2008. — № 6. — С. 42-48.
2. Конференция «Стандарты диагностики и лечения в гнойной хирургии». Раздел 3 «Стандарты классификации, диагностики и лечения хирургического сепсиса» // Хирургия. — 2002. — № 8. — С. 67-68.
3. Молчанов И.В., Болякина Т.К., Власенко А.В. Сепсис 2008: клинические рекомендации // Клиническая анестезиология и реаниматология. — 2008. — Т. 5, № 2. — С. 17-23.
4. Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Зайнутдинов Ю.Г., Стрельцова Е.И., Овечкин А.В., Черных Е.Р. Хирургический сепсис. Часть I. Иммунологические маркеры системной воспалительной реакции // Вестник хирургии. — 2002. — № 3. — С. 101-107.
5. Останин А.А., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я., Черных Е.Р., Коненков В.И. Оценка цитокинового профиля у больных с тяжелым сепсисом методом проточной флюориметрии (Bio-Plex-анализа) // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 1. — С. 20-27.
6. Решетников Е.А., Баранов Г.А., Чуванов М.В., Скалозуб О.И. Современная иммунотерапия в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом // Хирургия. — 2008. — № 7. — С. 11-14.
7. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. — М.: ГЭОТАР «Медицина», 2000. — 256 с.
8. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, № 1. — С. 9-16.
9. Суслов А.П., Коноплева М.В., Третьяков О.Ю., Кожушный А.П. Роль фактора подавления миграции макрофагов в формировании системного воспалительного ответа и развития сепсиса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2008. — № 5. — С. 15-23.
10. Bone R.C. Compensatory antiinflammatory response syndrome // Critical Care Medicine. — 1996. — Vol. 24, N 4. — P. 609-617.
11. Bone R.C., Godzin C.J., Balk R.A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process // Chest. — 1997. — N 112. — P. 235-243.

поступила в редакцию 31.12.2009

принята к печати 28.01.2010