

Ю.С. ВИННИК, С.С. ДУНАЕВСКАЯ

ОЦЕНКА ТЯЖЕСТИ ПАНКРЕАТОГЕННОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,
Российская Федерация

Цель. Изучить нарушения иммунного статуса у пациентов с тяжелым острым панкреатитом.

Материал и методы. Обследовано 40 пациентов с диагнозом тяжелый острый панкреатит. В исследование были включены пациенты в возрасте от 23 до 76 лет. Фенотип лимфоцитов оценивался методом непрямой флуоресценции с моноклональными антителами с определением рецепторов: CD3, CD4, CD8. Концентрация сывороточных иммуноглобулинов А, М, G оценивалась методом иммунопреципитации на агаровом геле. Функциональную активность фагоцитирующих клеток периферической крови исследовали с использованием проточной цитометрии. С помощью «Латекс-теста» подсчитывали процент фагоцитирующих клеток – фагоцитарный индекс и среднее число фагоцитированных частиц. Учитывали выраженность снижения лабораторного показателя иммунного статуса. Снижение величины показателя от 15 до 30% от нижней границы нормы рассматривали как первую степень иммунной недостаточности, в пределах 31-60% – как вторую степень недостаточности, а ниже 61% – как третью, наиболее тяжелую степень нарушений иммунитета.

Результаты. Установлено, что при тяжелом остром панкреатите регистрировались значительные отклонения в показателях иммунограммы. Это выражалось в снижении количества Т-хелперов до третьей степени (T_{h-3}) и незначительном снижении Т-лимфоцитов с супрессорно-цитотоксическими функциями первой степени (T_{s-1}). В динамике происходило снижение дефицита клеточного звена: T_{h-1} и T_{s-1} . На 7-е сутки снижались показатели фагоцитарного звена. Регистрировалось повышение при поступлении IgA, других изменений в гуморальном звене не выявлено.

Заключение. У пациентов с тяжелым острым панкреатитом выявлена иммунная недостаточность, причем основные изменения отмечаются в клеточном звене системы иммунитета. Отклонения в показателях иммунограммы регистрировалась уже на момент поступления, что возможно связано с развившемся ранее вторичным иммунодефицитом.

Ключевые слова: острый панкреатит, иммунодефицит, тяжелое течение

Objectives. To study the disturbances of the immune status in patients with severe acute pancreatitis.

Methods. 40 patients with the diagnosis of severe acute pancreatitis have been examined. The patients of 23-76 years old were included in the study. Phenotype of lymphocytes was evaluated by the indirect fluorescence method with monoclonal antibodies and the determination of receptors: CD3, CD4, CD8. The concentration of serum immunoglobulins A, M, G was determined by immunoprecipitation method on the agar gel. Peripheral blood's functional activity of phagocyte was studied by means of flow cytometry. The percentage of phagocytic cells – phagocytosis index and an average number of phagocytosed particles have been calculated by means of "Latex-test". The reduction of laboratory index of the immune status was taken into consideration. The decreasing of index (from 15% up to 30%) from the lower limit of norm was considered as the first degree of immune insufficiency, within 31-60% – as the second degree of insufficiency, lower than 61% – as the third, the heaviest degree of immunity disturbances.

Results. It has been established that considerable deviations of immunogram indices were registered in case of severe acute pancreatitis. It was expressed in the reduction of the number of T helper cells to the third degree (T_{h-3}) and insignificant reduction of the suppressor T cells to the first degree (T_{s-1}). The reduction of the cellular component deficiency – T_{h-1} , T_{s-1} occurred in dynamics. The indices of a phagocytal link had decreased by the 7th day. Increase was registered at admission of IgA, the other changes in a humoral link were not revealed.

Conclusions. In the patients who had a severe acute pancreatitis, immune deficiency has been detected and cardinal changes were observed in the cellular components of the immune system. Deviations of immunogram indices have already been registered at the moment of hospital admission which could be probably connected with the secondary immunodeficiency developed earlier.

Keywords: acute pancreatitis, immunodeficiency, severe course

Novosti Khirurgii. 2013 Jul-Aug; Vol 21 (4): 40-44
Estimation of severity of pancreatic immunodeficiency
Y.S. Vinnik, S.S. Dunaevskaya

Введение

Тяжелый острый панкреатит (ТОП) является одной из наиболее важных проблем неотложной

панкреатологии [1]. Количество пациентов с этой патологией постоянно неуклонно растет, по статистическим данным ежегодно выявляется от 200 до 800 пациентов на 1 млн. населения [2].

О сложности ранней диагностики ТОП свидетельствует наличие большого количества лабораторных тестов (около 200) и прогностических шкал, не говоря уже об инструментальных методах [3, 4, 5]. Ежегодно разрабатываются новые способы диагностики и оценки тяжести острого панкреатита, что объясняется неудовлетворенностью практических врачей уже существующими методами [6, 7]. Возросла роль иммунологических исследований для оценки тяжести вторичного иммунодефицитного состояния при тяжелом остром панкреатите.

Изменения в иммунном статусе у пациентов, страдающих тяжелым острым панкреатитом, могут варьировать в достаточно широких границах [8]. Нарушение дифференцировки иммунокомпетентных клеток, выраженное снижение числа Т-клеток, и, в меньшей мере, В-лимфоцитов, а также увеличение CD4+CD8+клеток наблюдается у пациентов с объемом поражения поджелудочной железы более 50% [9]. Одновременно с нарушением процессов дифференцировки иммунокомпетентных клеток существенно изменяется объем отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов, а вовлечение в процесс малодифференцированных клеток, какими являются О-лимфоциты, отражает снижение иммунологической реактивности пациентов в целом [10].

Цель работы — изучить нарушения иммунного статуса у пациентов тяжелым острым панкреатитом.

Материал и методы

Обследовано 40 пациентов с диагнозом тяжелой острый панкреатит за период с 2008 по 2012 гг., находившихся на стационарном лечении в хирургическом отделении Дорожной клинической больницы на ст. Красноярск.

Возраст пациентов с острым панкреатитом варьировал от 23 до 76 лет, средний возраст составил 43,4 лет. Мужчины составили большинство обследованных — 70,58 %. Средние сроки от начала заболевания до момента госпитализации составили $2,3 \pm 2,1$ дней. В 32% случаев панкреатит был алиментарного генеза, в 68% — билиарного.

Критерием включения в исследование являлся тяжелый острый панкреатит с благоприятным течением процесса. Из исследования были исключены пациенты с неблагоприятным исходом ТОП. Неблагоприятным исходом считали: распространенные гнойные осложнения (инфицированный панкреонефроз, флегмона забрюшинной клетчатки); ле-

тальный исход вследствие панкреатогенного шока и от гнойно-септических осложнений 2-й фазы ТОП.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых людей в возрасте от 20 до 50 лет (10 мужчин и 10 женщин).

Обследование всех пациентов с тяжелым острым панкреатитом (ТОП) включало общеклинические, лабораторные и инструментальные методы.

Для оценки тяжести острого панкреатита использовали упрощенную критериальную систему А.Д. Толстого и шкалу Ranson.

Все пациенты получали традиционную терапию (инфузионная, спазмолитическая, антисекреторная и антибактериальная терапия).

На 1, 5, 7 и 9-11-е сутки от начала заболевания проводилась оценка иммунного статуса пациентов.

Забор крови для исследования производили из локтевой вены для выделения лимфоцитов, которые в дальнейшем использовались для фенотипирования моноклональными антителами. Фенотип лимфоцитов оценивался методом непрямой флуоресценции с мышиными моноклональными антителами на микроскопе «Люам И-1» с определением рецепторов: CD3, CD4, CD8. Концентрация сывороточных иммуноглобулинов А, М, G определялась методом иммунопреципитации на агаровом геле (G. Manchini et al., 1965) [11]. Содержание ЦИК проводили методом преципитации в растворе полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ6000) и фотометрированием при длине волны 450 нм. Функциональную активность фагоцитирующих клеток периферической крови определяли с использованием проточной цитометрии. С помощью «Латекс-теста» подсчитывали процент фагоцитирующих клеток — фагоцитарный индекс (ФИ) и среднее число фагоцитированных частиц (ФЧ). Используя НСТ-тест (тест восстановления нитросинего тетразолия) подсчитывали процент клеток, имеющих в цитоплазме синие гранулы восстановленного диформаза.

При определении признаков вторичной иммунологической недостаточности учитывали данные анамнеза: частые инфекционные заболевания в детском возрасте с тяжелым течением; тяжелое течение постпрививочного периода, реакции на гемотрансфузии; дисбактериоз кишечника; хронические рецидивирующие бактериальные и вирусные заболевания.

Учитывали выраженность снижения лабораторных показателей иммунного статуса. При этом снижение величины показателя от 15 до 30% от нижней границы нормы рассма-

тривали как первую степень иммунной недостаточности, в пределах 31-60% — как вторую степень недостаточности, а ниже 61% — как третью, наиболее тяжелую степень нарушений иммунитета.

Данные в выборках оценивались на нормальность распределения по методу Шапиро-Уилкса. В случае нормального распределения и подтверждения равенства дисперсии определение статистической значимости различий осуществлялось с помощью критерия Стьюдента. Описательная статистика для учетных признаков представлена в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — ошибка среднего арифметического. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У ряда пациентов анамнестически были выявлены признаки вторичной иммунной недостаточности: 37% пациентов отмечали наличие очагов хронической инфекции — фарингита, тонзиллита, синусита, цистита; 19% ранее лечились по поводу дисбактериоза кишечника, 33% по поводу частых острых респираторных заболеваний.

На 1-е сутки от начала заболевания у пациентов с ТОП абсолютное количество Т-лимфоцитов было ниже, чем в группе контроля и составило 420 ± 50 (56,71%). CD3 были снижены на 32,03%, что соответствовало тяжелой степени депрессии. Т-хелперы были снижены до $15,30 \pm 1,74$, таким образом, также определялась тяжелая степень иммунодефицита — $T_{х-3}$. При исследовании супрессоров/ци-

тотоксических клеток регистрировалась легкая степень иммунодепрессии — $T_{с-1}$. Значение НК-клеток было в пределах нормы. Иммунорегуляторный индекс значительно был снижен ($0,56 \pm 0,04$), что свидетельствует о выраженном клеточном иммунодефиците. В фагоцитарном звене статистически достоверных отклонений от нормы не было зарегистрировано. В показателях циркулирующих иммунных комплексов достоверных отклонений не отмечалось. Концентрация иммуноглобулинов класса А в сыворотке крови у пациентов была повышена (таблица 1).

На 5-е сутки в клеточном, гуморальном и фагоцитарном звеньях иммунитета в динамике достоверных изменений по сравнению с показателями, полученными при поступлении, выявлено не было (таблица 2).

К 7-м суткам проводимой терапии было отмечено повышение процентного содержания Т-хелперов до $20,60 \pm 2,71\%$ и снижение Т-супрессоров/цитотоксических клеток до $23,78 \pm 1,43\%$. Как следствие, повысился ИРИ до $0,87 \pm 0,06$. Регистрировалось снижение показателей фагоцитарного звена: ФИ — $52,40 \pm 1,77$; ФЧ — $6,14 \pm 0,44$ и функционального состояния (НСТ-тест — $5,41 \pm 0,62$). Достоверных изменений показателей ЦИК и иммуноглобулинов не выявлено.

На 9-11 сутки отмечалось повышение абсолютного количества Т-лимфоцитов до 630 ± 90 , но показателей нормальных значений достигнуто не было. Происходило повышение CD4 — $25,70 \pm 3,14$ и снижение CD8 — $20,05 \pm 2,06$. Таким образом, ИРИ составил $0,95 \pm 0,08$, что является показателем нормаль-

Таблица 1

Показатели иммунного статуса в контрольной группе и группе пациентов с ТОП при поступлении ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа (n=20)	Пациенты с тяжелым острым панкреатитом (n=40)
Т-лимфоциты, CD3, абсол.	970±30	420±50*
Т-лимфоциты, CD3,%	62,45±1,40	42,45±2,15*
Т-хелперы, CD4,%	31,94±1,40	15,30±1,74*
Т-супрессоры/цитотоксические, CD8,%	30,51±1,10	27,15±2,09*
НК-клетки, CD16,%	16,84±0,83	16,85±1,14
ИРИ	1,07±0,05	0,56±0,04*
ФИ	68,23±5,08	61,36±3,84
ФЧ	9,38±0,86	7,78±1,06
НСТ-тест	8,76±0,93	9,74±1,52
ЦИК	26,17±2,61	23,14±2,30
IgA, г/л	1,51±0,09	2,60±0,89*
IgG, г/л	10,33±0,36	11,20±1,48
IgM, г/л	1,20±0,06	1,54±0,33

Примечание: * — достоверность отличия от группы контроля.

Динамика показателей иммунного статуса у пациентов с тяжелым острым панкреатитом

Показатели	Поступление	5 сутки	7 сутки	9-11 сутки
Т-лимфоциты, CD3, абсол.	520±50*	540±90*	590±80*	630±90* ^{1,2}
Т-лимфоциты, CD3,%	42,45±2,15*	38,11±3,09*	44,38±4,22*	45,75±4,30* ²
Т-хелперы, CD4,%	15,30±1,74*	17,28±1,26*	20,60±2,71* ¹	25,70±3,14* ^{1,2}
Т-супрессоры/цитотоксические, CD8,%	27,15±2,09*	27,83±1,02*	23,78±1,43* ²	20,05±2,06* ^{1,2}
НК-клетки, CD16,%	16,85±1,14	16,72±1,09	15,38±0,65	14,52±0,53* ^{1,2}
ИРИ	0,56±0,04*	0,83±0,07*	0,87±0,06* ¹	0,95±0,08 ¹
ФИ	61,36±3,84	56,38±2,74*	52,40±1,77* ¹	48,05±1,24* ^{1,2,3}
ФЧ	7,78±1,06	9,20±0,99	6,14±0,44* ^{1,2}	4,92±0,36* ^{1,2,3}
НСТ-тест	9,74±1,52	9,32±1,09	5,41±0,62* ^{1,2}	5,32±0,59* ^{1,2}
ЦИК	23,14±2,30	25,18±3,68	23,22±2,21	25,70±4,86
IgA, г\л	2,60±0,89*	2,90±0,72*	2,64±0,63*	2,41±0,50*
IgG, г\л	11,20±1,48	10,98±1,06	10,36±1,35	10,73±1,28
IgM, г\л	1,54±0,33	1,66±0,78	1,38±0,45	1,82±0,58

Примечание: * – достоверность отличия от показателей контрольной группы; 1 – достоверность отличия от показателей при поступлении; 2 – достоверность отличия от показателей на 5-е сутки; 3 – достоверность отличия от показателей на 7-е сутки.

ных значений. Фагоцитарная активность нейтрофилов снижалась, о чем свидетельствовали результаты ФИ, ФЧ и НСТ-теста. Полученные данные свидетельствовали о высоком уровне эндогенной интоксикации как за счет усиленного протеолиза, так и снижения элиминационной функции фагоцитов.

Таким образом, в динамике показателей иммунного статуса пациентов с тяжелым острым панкреатитом с благоприятным течением процесса имели положительный вектор изменений. Наиболее выраженные изменения происходили в клеточном и фагоцитарном звеньях иммунитета. Отсутствие полного восстановления лабораторно-иммунологических параметров на 9-11 сутки свидетельствует о том, что к этому времени не происходит полного купирования воспалительного процесса в поджелудочной железе, что диктует необходимость проведения метаболической коррекции и иммунореабилитации таких больных в течение длительного времени.

Заключение

1. В ходе проведенного исследования было выявлено, что у пациентов с тяжелым острым панкреатитом отмечалось снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов. Регистрировалось уменьшение показателя Т-хелперов до третьей степени, снижение Т супрессоров/цитотоксических клеток, а также угнетение фагоцитарного звена иммунитета. Показатели ЦИК достоверно не изменялись. В гуморальном звене иммунитета повышалась концентрация иммуноглобулинов класса А.

2. В динамике сохранялись нарушения иммунного статуса, но были менее выражены, что проявлялось дисбалансом субпопуляций лимфоцитов с повышением содержания CD4 и снижением CD8, понижением ФЧ, ФИ и НСТ-теста. Полученные данные соответствуют инфекционному варианту вторичного иммунодефицита.

ЛИТЕРАТУРА

- Hayden P. Severe acute pancreatitis / P. Hayden, D. Wyncoll // *Curr Anaesth Crit Care*. – 2008 Feb. – Vol. 19. – Is 1. – P. 1–7.
- Савельев В. С. Вопросы классификации и хирургического лечения при панкреонекрозе / В. С. Савельев, М. И. Филимонов, С. З. Бурневич // *Анналы хирургии*. – 1999. – № 4. – С. 34–38.
- Бескосный А. А. Критерии прогноза тяжелого течения острого панкреатита / А. А. Бескосный, С. А. Касумьян // *Анналы хирург. гепатологии*. – 2003. – № 1. – С. 24–32.
- Imrie C. W. Prognosis of acute pancreatitis // *Ann Ital Chir*. – 1995 Mar-Apr. – Vol. 66, N 2. – P. 187–89.
- Деструктивный панкреатит и парапанкреатит / А.Д. Толстой [и др.]. – СПб., 1999. – 128 с.
- Schütte K. Markers for predicting severity and progression of acute pancreatitis / K. Schütte, P. Malfertheiner // *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. – 2008. – Vol. 22, N 1. – P. 75–90.
- Papachristou G. I. Risk and Markers of Severe Acute Pancreatitis / G. I. Papachristou, G. Clermont // *Gastroenterol Clin North Am*. – 2007. – Vol. 36, N 2. – P. 277–96.
- Назаров И. П. Иммунопатология в хирургии и анестезиологии / И. П. Назаров, Ю. С. Винник, С. С. Дунаевская. – Красноярск : Кларетианум, 2003. – 297 с.
- Тарасенко В. С. Особенности иммунного статуса при остром панкреатите / В. С. Тарасенко, А. И.

Смолягин, В. А. Кубышкин // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2000. — № 8. — С. 51–55.

10. Характеристика иммунных нарушений у пациентов острым панкреатитом / В.С. Тарасенко [и др.] // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2001. — № 4. — С. 31–34.

11. A single radial-diffusion method for the immunological quantitation of protein / G. Manchini [et al.] / Ed. N. Peeters. — Amsterdam; N.Y. : Elsevier, 1964. — P. 370–73.

Адрес для корреспонденции

660022, Российская Федерация,
г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1,
ГБОУ ВПО «Красноярский государственный
медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,
кафедра общей хирургии,
e-mail: Vikto-potapenk@yandex.ru,
Дунаевская Светлана Сергеевна

Сведения об авторах

Винник Ю.С., Заслуженный деятель науки Российской Федерации, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Дунаевская С.С., к.м.н., доцент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Поступила 5.02.2013 г.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Приглашаем Вас принять участие в работе
XIX ВСЕРОССИЙСКОГО СЪЕЗДА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ХИРУРГОВ РОССИИ,
который будет проходить **с 24 по 27 ноября 2013 г.**
в НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН в г. Москве.

В научную программу съезда включен широкий спектр актуальных вопросов современной сердечно-сосудистой хирургии, кардиологии, анестезиологии-реаниматологии, сестринского дела, сателлитные симпозиумы и конференции.

Научная тематика съезда:

Врожденные пороки сердца. Легочная гипертензия. Приобретенные пороки сердца. Хирургическое лечение ИБС. Сочетанная патология. Нарушения ритма сердца. Диагностика и хирургия сосудов. Миниинвазивная хирургия. Рентгенэндоваскулярная хирургия. Лечение критической сердечной недостаточности. Искусственное кровообращение. Интраоперационная защита миокарда (кардиоплегия). Кардиоанестезиология. Интенсивная терапия. Инфекция в сердечно-сосудистой хирургии. Проблемы гомеостаза в сердечно-сосудистой хирургии. Лучевая диагностика заболеваний сердечно-сосудистой системы. Актуальные вопросы детской кардиологии. Современные аспекты кардиологии. Генные факторы и клеточные технологии в сердечно-сосудистой хирургии. Редкие случаи заболеваний сердца и сосудов, нестандартные кардиохирургические вмешательства. Сестринское дело. Правовые и организационно-экономические вопросы при применении высокотехнологичных видов медицинской помощи.

Контакты:

Телефон: **(495) 414-77-34**

Факс: **(495) 414-76-68**

E-mail: **org_ncssh@mail.ru**

Дополнительная информация на сайте: **www.bakulev.ru**