УДК 616.411-089.87:616.15:612.017.1

Е.Д. Хворостов, Н.Н. Попов, Л.Н. Душик
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ И ХАРАКТЕР ИММУННЫХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КРОВИ ДО И ПОСЛЕ СПЛЕНЭКТОМИИ

Работа выполнена на основании комплексного клинико-лабораторного и инструментального обследования 137 больных с различными заболеваниями системы крови, требующими оперативного лечения. Показания к спленэктомии были определены исключительно индивидуально после проведённого обследования и лечения в гематологическом стационаре. Сделан вывод, что спленэктомия способствует нормализации механизмов иммунорегуляции и восстановлению нормальной иммунореактивности организма у гематологических пациентов.

Ключевые слова: *гематологические пациенты, иммунореактивность организма, иммунные расстройства, спленэктомия.*

Накопленные ранее данные свидетельствуют о том, что иммунная система вместе с нервной и эндокринной играет важную роль в поддержании гомеостаза организма и принимает активное участие во всех его физиологических реакциях. Своё контролирующее и регуляторное влияние иммунная система осуществляет через прямые межклеточные контакты, произведённые ею цитокины и антительные реакции. Действие упомянутых факторов может проявляться как в усилении активности отдельных клеток, органов или систем, повышении их метаболизма, так и в угнетении их функций [1–3].

Материал и методы. Работа выполнена на основании комплексного клинико-лабораторного и инструментального обследования 137 больных (63 мужчины и 74 женщины) в возрасте от 18 до 64 лет с различными заболеваниями системы крови, требующими оперативного лечения. Аутоиммунные гемолитические анемии обнаружены у 29 (21,2 %) больных, наследственные гемолитические анемии – у 10 (7,3 %), тромбоцитопеническая пурпура (болезнь Верльгофа) – у 29 (21,2 %), апластическая анемия – у 6 (4,4 %), лимфома селезёнки – у 20 (14,6 %), лейкоз – у 9 (6,5 %), спленомегалия – у 25 (18,2 %), кисты селезёнки – у 9 (6,6 %). Лапаротомии выполнены 124 пациентам, лапароскопические спленэктомии – 13.

Представленные наблюдения накоплены в клинике хирургических болезней Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина на базе хирургических отделений ГУ «Дорожная клиническая больница ст. Харьков» СТГО «Южная железная дорога» за период с 2000 по 2011 г. включительно. Для выполнения спленэктомии использовали лапароскопический и лапаротомный доступы. Во время операции в качестве интраоперационного диссектора и коагулятора использовали ультразвуковую установку «Harmponic Scalpel. Ultracision» (Ethicon, США), в качестве электрогенераторов – стандартные высокочастотные аппараты ЕХВА-350М/120Б «Надія-2» (Украина) и Karl Storz-endoscope (Германия).

При изучении влияния метода выполнения спленэктомии на иммунореактивность больных все пациенты были разделены на две группы по 30 чел. в каждой: пациентам 1-й (основной) группы спленэктомия выполнялась с помощью ультразвукового скальпеля, 2-й (контрольной) группы – методом электрокоагуляции. Иммунологические ис-

© *Е.Д. Хворостов, Н.Н. Попов, Л.Н. Душик, 2012*

следования после спленэктомии проводились на 7, 14, 30-е сутки и через один год. Следует отметить, что скорость и полнота восстановления иммунореактивности организма тесно взаимосвязаны с нормализацией гемопоэза и иммунной системой через механизмы иммунорегуляции, контролирующие процессы в кроветворной ткани. Показатели иммунного статуса больных отражают скорость протекания репаративных процессов в послеоперационном периоде, а также характер и степень воспалительной реакции.

Результаты. Иммунологические исследования показали, что на 7-е сутки после операции у больных как 1-й, так и 2-й группы происходит увеличение количества лейкоцитов, содержание которых на 14-е сутки несколько снижается по сравнению с 7-ми, но остаётся достоверно выше, чем до операции. На 30-е сутки и через 1 год у больных обеих групп содержание лейкоцитов крови достоверно не отличается от нормальных значений (табл. 1). Лейкоцитарная реакция на оперативное вмешательство у больных 2-й группы была несколько выше, чем у больных 1-й группы, о чём свидетельствует более высокое содержание лейкоцитов в крови на 7-е и 14-е послеоперационные сутки.

Реакция лимфоцитов у больных обеих групп на операцию была несколько иной (табл. 1). На 7-е послеоперационные сутки наблюдалось снижение процентного содержания лимфоцитов в крови у больных обеих групп; у больных 1-й группы на 14-е сутки их содержание восстанавливалось до нормальных значений, а у больных 2-й группы оставалось ниже нормы. На 30-е сутки в обеих группах больных содержание лимфоцитов в крови не отличалось от нормы. При этом в течение указанного срока достоверная разница в процентном содержании лимфоцитов сохранялась между больными обеих групп. Следует отметить, что абсолютное количество лимфоцитов в крови на протяжении всего послеоперационного срока (7, 14, 30-е сутки, один год) достоверно не различалось у больных обеих групп и у здоровых лиц (табл. 1).

В популяционном содержании лимфоцитов после операции происходили следующие изменения. У больных 1-й группы на 7-е послеоперационные сутки отмечалась тенденция к снижению количества Т-общих лимфоцитов ($CD3^+$-клеток), Т-хелперов ($CD4^+$-клеток), Т-цитотоксических супрессорных клеток ($CD8^+$-клеток) по сравнению с их содержанием до операции и к постепенному увеличению их количества на 14-е и 30-е сутки. У больных 2-й группы тенденция к снижению количества $CD3^+$-, $CD4^+$-, $CD8^+$-клеток в крови наблюдалась на 7-е и 14-е сутки после операции и к повышению их количества на 30-е сутки. Через один год после операции у больных как 1-й, так и 2-й группы количество этих субпопуляционных клеток было не-

Таблица 1. Популяционное содержание лимфоцитов периферической крови больных в разные сроки после операции

Показатели	До операции	После операции				Здоровые доноры
		7-е сут	14-е сут	30-е сут	1 год	
Лейкоциты, 10^9/л						
1-я группа	6,28±0,60	10,00±0,93*#	9,10±0,91*#	7,21±0,73	6,41±0,54	6,82±0,52
2-я группа	6,96±0,63	12,70±1,12*	11,40±1,10*	7,93±0,82	6,87±0,72	
Лимфоциты, %						
1-я группа	39,10±3,76	28,20±3,74*	34,80±3,51#	37,30±3,78#	36,90±3,23	32,80±3,27
2-я группа	39,00±3,72	20,90±3,65*	25,60±2,86*	29,70±3,15	30,70±3,30	
Лимфоциты, абс. ч.						
1-я группа	2,49±0,26	2,82±0,34	3,17±0,32	2,68±0,29	2,36±0,27	2,23±0,24
2-я группа	2,71±0,28	2,65±0,23	2,91±0,30	2,35±0,27	2,10±0,25	

Примечание. $p<0,05$; * в сравнении с показателями здоровых доноров; # между показателями больных 1-й и 2-й групп. Здесь и в табл. 2–4.

сколько выше, чем до операции, но достоверно ниже, чем у здоровых лиц. Содержание в крови В-лимфоцитов ($CD22^+$-клеток) и НК-клеток ($CD16^+$) в послеоперационном периоде существенных изменений не претерпевало, как до операции, так и после неё оно было таким же, как у здоровых лиц. На этом фоне у больных обеих групп на 7-е и 14-е сутки после операции наблюдалось увеличение количества активированных лимфоцитов (CD25+- и CD30+-клеток). Более высокий прирост количества этих клеток наблюдался у больных 2-й группы по сравнению с больными 1-й группы. На 30-е сутки у больных обеих групп наблюдалась тенденция к снижению количества активированных клеток ($CD25^+$, $CD30^+$), но уже через один год в обеих группах больных их количество достоверно превышало норму.

Под влиянием операции в обеих группах больных происходило динамичное снижение количества $CD5^+$- и $CD95^+$-лимфоцитов, которые до операции значительно превышали норму. На 30-е сутки у больных 1-й группы количество $CD5^+$- и $CD95^+$-клеток достоверно не отличалось от такового у здоровых лиц. У больных 2-й группы содержание в крови $CD5^+$-клеток было на уровне нормы, а содержание $CD95^+$-клеток несколько превышало норму. Через один год после операции количество $CD95^+$-клеток в обеих группах больных находилось в пределах нормы. Вместе с тем через один год у больных 1-й и 2-й групп наблюдалось пониженное содержание в периферической крови Т-общих лимфоцитов, Т-хелперов и увеличенное содержание активированных клеток ($CD25^+$, $CD30^+$), что, скорее всего, является следствием удаления селезёнки – одного из важнейших органов иммунной системы, и того, что её функция не компенсировалась другими составляющими иммунной системы.

У больных 1-й и 2-й групп после операции наблюдалось снижение спонтанной пролиферативной активности и повышение ФГА-индуцированной пролиферации (табл. 2).

Более динамичные изменения этих показателей наблюдались у больных 1-й группы по сравнению с больными 2-й группы. У первых спонтанная пролиферативная активность восстанавливалась до нормальных значений к концу первого месяца, у вторых она оставалась несколько выше нормы, хотя достоверно не отличалась от таковой у больных 1-й группы. Через один год у больных обеих групп этот показатель иммунореактивности соответствовал такому же показателю контрольной группы лиц, которым не выполнялась спленэктомия. ФГА-индуцированная пролиферация лимфоцитов у больных обеих групп на 30-е сутки и через один год после операции была достоверно выше ($p<0,05$), чем до операции, но этот показатель лимфоцитарной активности у больных был ниже, чем у лиц контрольной группы, которым не выполнялась спленэктомия. Следует заметить, что способность лимфоцитов бласт-трансформироваться под влиянием митогенов (ФГА, Con-A) или антигенов отражает активность клеток в развитии неполноценной иммунной реакции. Повышение ФГА-индуцированной пролиферации лимфоцитов после операции указывает на положительную динамику восстановления иммунореактивности клеток и организма в целом.

В содержании иммуноглобулинов в сыворотке крови больных 1-й и 2-й групп в послеоперационном периоде существенных

Таблица 2. Пролиферативная активность лимфоцитов крови больных до и после операции

Показатели	До операции	После операции				Здоровые доноры
		7-е сут	14-е сут	30-е сут	1 год	
РБТ-спонт., %						
1-я группа	11,4±1,1*	15,1±1,6*	10,1±1,1*	8,1±0,9	8,0±0,9	7,5±0,5
2-я группа	11,5±1,2*	17,3±1,8*	11,0±1,2*	9,0±0,9*	8,3±0,9	
ФГА-инд., %						
1-я группа	34,3±4,4*	30,0±3,9*	40,9±4,1*	44,9±5,0*	46,6±5,2*	58,9±6,4
2-я группа	34,9±4,6*	27,6±3,8*	35,6±4,0*	40,6±4,9	44,9±5,1*	

изменений не произошло (табл. 3). На 7-е сутки после операции у больных обеих групп наблюдалась тенденция к снижению IgA и повышению IgM. На 14-е сутки после операции уровень этих иммуноглобулинов возвращался к исходным значениям. На 30-е сутки и через один год после операции уровень IgA у больных обеих групп оставался достоверно ниже нормы. Колебания уровня IgM и IgG в сыворотке крови больных 1-й и 2-й групп во все послеоперационные сроки не выходили за пределы нормы. Через один год после операции содержание IgM и IgG у этих больных соответствовало таковому у здоровых людей.

Таблица 3. Содержание иммуноглобулинов и ЦИК в сыворотке крови больных до и после операции

Показатели	До операции	После операции				Здоровые доноры
		7-е сут	14-е сут	30-е сут	1 год	
IgA						
1-я группа	1,07±0,13*	0,95±0,12*	1,07±0,12*	1,09±0,12*	1,10±0,13*	1,39±0,16
2-я группа	1,09±0,12*	0,90±0,13*	1,01±0,12*	1,08±0,12*	1,10±0,13*	
IgM						
1-я группа	1,25±0,14	1,40±0,15	1,37±0,14	1,29±0,14	1,25±0,14	1,26±0,12
2-я группа	1,26±0,14	1,44±0,15	1,38±0,14	1,30±0,14	1,26±0,14	
IgG						
1-я группа	13,08±0,70	13,21±0,80	12,86±0,73	13,03±0,72	12,41±0,70	13,63±0,63
2-я группа	13,06±0,66	13,20±0,81	13,04±0,76	13,01±0,73	12,96±0,70	
$ЦИК_{общ.}$, г/л						
1-я группа	2,32±0,26*	2,98±0,30*#	2,53±0,26*	2,07±0,21*	1,73±0,18*	1,34±0,13
2-я группа	2,30±0,26*	3,69±0,32*	3,01±0,30*	2,30±0,22*	1,76±0,18*	

На 7-е сутки после операции в обеих группах больных наблюдалось достоверное повышение ЦИК в крови. Более высокий рост концентрации иммунных комплексов отмечался у больных 2-й группы по сравнению с больными 1-й группы. У больных 1-й группы наблюдался достоверный рост концентрации крупно- и среднемолекулярных иммунных комплексов. У больных 2-й группы, кроме увеличения содержания этих молекул в крови, наблюдалось достоверное повышение концентрации и низкомолекулярных иммунных комплексов. Известно, что низкомолекулярные ЦИК обладают выраженной иммуноагрессивностью, способны инициировать патологические иммунные процессы. В последующие сроки (14-е и 30-е сутки) у пациентов обеих групп происходило динамичное снижение содержания иммунных комплексов всех размеров. Более интенсивно этот процесс происходил у больных 1-й группы по сравнению с больными 2-й группы. Через один год после операции у пациентов обеих групп содержание ЦИК в крови было выше, чем у здоровых лиц, но значительно ($p<0,05$) ниже, чем до операции.

На 7-е сутки после операции у пациентов 1-й и 2-й групп наблюдался рост концентрации в сыворотке крови всех провоспалительных (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. В наибольшей степени повышалось содержание ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-10. Следует отметить, что у пациентов 2-й группы увеличение содержания провоспалительных цитокинов было более выраженным, чем у пациентов 1-й группы. У последних увеличение содержания в сыворотке крови провоспалительных цитокинов сопровождалось более высоким ростом содержания в крови противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и менее значительным ростом ИЛ-4. Наблюдаемое повышение содержания у больных 1-й и 2-й групп в послеоперационный период противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), скорее всего, связано с потребностью организма в

восстановлении баланса между про- и противовоспалительными интерлейкинами. На 14-е сутки после операции в обеих группах больных наблюдалось снижение концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (табл. 4). Более динамично этот процесс протекал у больных 1-й группы, чем у больных 2-й группы. У больных 1-й группы в течение этого срока содержание цитокинов было сравнительно ниже, чем до операции, а у больных 2-й группы оставалось высоким. Содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови по сравнению с состоянием на 7-е сутки существенно не изменилось, оно по-прежнему значительно превышало таковое до операции.

вает транзиторное более кратковременное снижение количества основных субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8) с последующим более интенсивным восстановлением их количества в крови, менее высокий рост в ранние послеоперационные сутки количества активированных лимфоцитов ($CD25^+$, $CD30^+$) и более динамичное снижение в периферической крови клеток, готовых к апоптозу ($CD95^+$). Это означает, что у больных 1-й группы по сравнению с больными 2-й группы после операции наблюдался более короткий период низкой иммунореактивности, а её восстановление начиналось в более ранние сроки и протекало более интенсивно. Высокая иммунореактивность обеспе-

Таблица 4. Цитокиновый статус больных до и после операции

Показатели, пг/мл	До операции	После операции				Здоровые доноры
		7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки	1 год	
ИЛ-1β						
1-я группа	13,69±1,47*	22,73±1,94*#	11,03±1,23*#	3,68±0,44*#	3,21±0,37*	1,82±0,20
2-я группа	13,67±1,46*	29,35±3,06*	21,15±2,36*	5,34±0,56*	3,96±0,41*	
ИЛ-6						
1-я группа	98,01±8,61*	153,17±13,62*#	86,37±7,35*	29,15±3,11*#	18,84±1,93*	12,11±1,13
2-я группа	98,05±8,61	197,79±15,34*	104,30±11,04*	37,53±4,12*	20,63±2,03*	
ФНО-α						
1-я группа	16,90±2,12*	20,36±2,53*#	10,69±1,21*#	3,12±0,37*#	2,73±0,29*	1,56±0,21
2-я группа	16,82±2,10	26,03±2,74*	17,75±1,83*	3,96±0,41*	2,94±0,29*	
ИЛ-4						
1-я группа	4,14±0,47	5,67±0,61*	5,73±0,62*	5,11±0,53*#	3,96±0,45	3,45±0,41
2-я группа	4,08±0,44	6,94±0,73*	7,01±0,75*	6,76±0,69*	4,15±0,47	
ИЛ-10						
1-я группа	7,1±0,6	16,70±1,63*#	17,40±0,78*#	11,60±,23*	8,9±0,9	8,1±0,9
2-я группа	6,9±0,6	10,70±1,21*	12,30±,34*	10,80±,20*	9,1±0,9	

На 30-е сутки наблюдалось снижение содержания как провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α, так и противовоспалительных ИЛ-4, ИЛ-10. Однако и в этот срок и через один год восстановления нормального цитокинового статуса у больных обеих групп не наблюдалось.

Обсуждение результатов. Операция с использованием ультразвукового скальпеля по сравнению с электрокоагуляцией вызывает интенсивные репаративные процессы, снижает негативное влияние воспалительной реакции на окружающие ткани, препятствует развитию послеоперационных инфекционных осложнений, а также раннему включению адаптационных механизмов и механизмов нормализации гемопоэза.

Скорее всего, у пациентов после спленэктомии функцию образования антител селезёнкой эффективно компенсирует лимфо-

идная ткань, представленная в других органах и образованиях[4–6]. Так как через один год восстановления нормального цитокинового статуса у больных обеих групп не наблюдалось, при этом цитокиновый профиль больных был значительно лучше, чем до операции, это свидетельствует о существенной нормализации механизмов цитокинового контроля за гомеостазом организма.

Выводы

1. Полученные данные указывают на то, что спленэктомия способствует нормализации механизмов иммунорегуляции и восстановлению нормальной иммунореактивности организма.

2. Восстановление иммунореактивности начинается раньше и протекает более интенсивно при использовании ультразвукового сканирования, что свидетельствует о снижении негативного влияния воспалительной реакции на окружающие ткани.

3. Раннее включение адаптационных механизмов и механизмов нормализации гемопоэза в целом позитивно сказывается на реабилитации пациентов, перенёсших спленэктомию с использованием ультразвукового сканирования.

Список литературы

1. *Гайдукова С. М.* Нове в гематології та трансфузіології / С. М. Гайдукова // Міжнар. наук.-практ. зб. – К., 2006. – Вип. 4. – 223 с.

2. *Дранник Г. Н.* Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – К., 2006. – 482 с.

3. Особенности хирургического лечения больных с заболеваниями системы крови / Б. Н. Жуков, В. Р. Исаев, С. А. Быстров, Ю. С. Толкачев // Ургентная и реконструктивно-восстановительная хирургия : сб. научн. тр.; Вып. 4. – Самара : Офорт; СамГМУ, 2009. – 279 с.

4. *Шапкин Ю. Г.* Значение селезенки в иммунном статусе организма / Ю. Г. Шапкин, В. В. Масляков // Детская хирургия. – 2007. – № 5. – С. 40–42.

5. Immunoadsorption method using immunoglobulin Adsopak in adult cases with ITP resistant to splenectomy and other medical therapies / O. Bilgir, F. Bilgir, M. Calan [et al.] // Transfus. Apher. Sci. – 2008 Aug 20.

6. Anti-infectious prophylaxis after splenectomy: current practice in an eastern region of Switzerland / B. Hasse, C. Moll, K. Oehy [et al.] // Swiss. Med. Wkly. – 2005. – Vol. 135 (19–20), № 14. – P. 291–296.

Є.Д. Хворостов, Н.Н. Попов, Л.М. Душик

ІМУНОРЕАКТИВНІСТЬ І ХАРАКТЕР ІМУННИХ РОЗЛАДІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ КРОВІ ДО ТА ПІСЛЯ СПЛЕНЕКТОМІЇ

Робота виконана на підставі комплексного клініко-лабораторного і інструментального обстеження 137 хворих з різними захворюваннями ситеми крові, що потребували оперативного лікування. Показання до спленектомії були визначені виключно індивідуально після проведеного обстеження і лікування в гематологічному стаціонарі. Зроблено висновок, що спленектомія сприяє нормалізації механізмів імунорегуляції і відновленню нормальної імунореактивності організму у гематологічних пацієнтів.

Ключові слова: *гематологічні пацієнти, імунореактивність організму, імунні розлади, спленектомія.*

Ye.D. Khvorostov, N.N. Popov, L.N. Dushik

IMMUNOREACTIVITY AND CHARACTER OF IMMUNE DISORDERS IN PATIENTS WITH DISEASES OF THE BLOOD BEFORE AND AFTER SPLENECTOMY

This work was based on a comprehensive clinical, laboratory and instrumental examination of 137 patients with various diseases of the blood system, which require surgical treatment. Indications for splenectomy were determined individually only after screening and treatment in the hematology clinic. Our analysis suggests that splenectomy in hematological patients helps to normalize immunoregulation mechanisms and restore the normal immune response of the organism.

Key words: *hematology patients, immunoreactivity of organism, immune disorders, splenectomy.*

Поступила 03.02.12