



Б. О. Матвійчук,
О. В. Лукавецький,
В. Ю. Федоров

Національний медичний
університет імені Данила
Галицького, м. Львів

© Колектив авторів

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННИХ КЛІТИННОЗАЛЕЖНИХ МЕХАНІЗМІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ АБДОМІНАЛЬНИМ СЕПСИСОМ

Резюме. Проведено аналіз клітинних показників імунної системи 55 пацієнтів із гострою абдомінальною хірургічною патологією. Встановлено, що у хворих із абдомінальним сепсисом (АС) є значиме підвищення стимульованого показника фагоцитів ($p < 0,05$) та істотне послаблення резервної оксидантної активності цих клітин ($p < 0,05$) у порівнянні з групою пацієнтів без ознак абдомінального сепсису. У групі пацієнтів з АС виявлено вірогідне збільшення кількості активованих регуляторних адаптивних Т-лімфоцитів ($p < 0,05$) та значиме підвищення активності Т2-регуляторних лімфоцитів ($p < 0,01$). Таким чином, констатовано дисбаланс мононуклеарної ланки імунної системи, яка створює умови для формування імунodefіцитного порушення із ризиком розвитку тяжкого сепсису та септичного шоку, що вимагає використання імунотропної терапії на ранніх етапах захворювання.

Ключові слова: гостра абдомінальна хірургічна патологія, абдомінальний сепсис, клітини імунної системи.

Вступ

Незважаючи на очевидні успіхи у діагностиці та лікуванні ряду захворювань, абдомінальний сепсис (АС) продовжує займати перше місце в структурі причин смерті хворих у відділеннях інтенсивної терапії та хірургії, спричиняючи високі показники летальності [2]. Проведеними дослідженнями доведено, що важливим етапом у виникненні АС є ушкодження адаптивних механізмів регуляції гомеостазу і розвиток синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ) з викидом у кров імункомпетентними клітинами великої кількості прозапальних цитокінів [3]. Особливу увагу приділено вивченню різних субпопуляцій регуляторних клітин, які продукують гальмуючі цитокіни і визначають активність розвитку системної запальної реакції та формування глибини імунodefіциту [3]. Імунопатогенез сепсису запускається цитокіновим каскадом, в основі якого лежить взаємодія прозапальних та протизапальних медіаторів, які активно продукують як фагоцити, так і лімфоцити [7]. Надмірна вираженість або тривалість тієї чи іншої фази імунної відповіді може негативно позначатися на перебігу септичного процесу. Ряд авторів вважає, що надлишкова продукція імункомпетентними клітинами прозапальних цитокінів може індукувати розвиток септичного шоку, тоді як пролонгована активація клітин-продуцентів протизапальних медіаторів пов'язана з формуванням глибокої імунodeпресії, результатом якої є летальне завершення АС [4, 7].

Проте механізми, що опосередковано впливають на перехід із прозапальної фази імунної

відповіді у запальну, спричинюючи значну активацію імунних сил організму з подальшим виснаженням та розвитком імунodefіциту, вивчені не достатньо, особливо їх клітиннозалежна ланка.

Мета досліджень

Оцінка кількісних та функціональних показників фагоцитів та лімфоцитів – продуцентів прозапальних та протизапальних цитокінів пацієнтами із гострою хірургічною абдомінальною патологією, ускладненою абдомінальним сепсисом.

Матеріали та методи досліджень

Проаналізовано результати лікування 55 хворих, що оперовані у хірургічних відділеннях лікарні швидкої медичної допомоги та Львівської ОКЛ у 2014–2015 роках з гострою хірургічною абдомінальною патологією. Вік пацієнтів знаходився в межах 18–88 років (середній – $(50,1 \pm 1,2)$ років). Незначно переважали чоловіки – 29 (52,7 %). Усіх пацієнтів було госпіталізовано в ургентному порядку, в середньому на $(2,3 \pm 0,5)$ добу від перших проявів захворювання. Загальноклінічними (аналіз скарг та анамнезу захворювання, об'єктивне обстеження), лабораторними (загальний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові), інструментальними (відеолапароскопія) та променевими (УЗД, рентгенографія живота, КТ) методами було діагностовано: гострий холецистит (ГХ) – 24 (43,6 %), гострий апендицит (ГА) – 21 (38,2 %), гострий панкреатит (ГП) – 6 (10,9 %), перфораційну виразку шлунка або дванадцятипалої кишки (ПВ) – 4 пацієнтів



(7,3 %). Померли 2 хворих (післяопераційна летальність – 3,6 %). В обох випадках основною причиною смерті визнано поліорганну недостатність септичного генезу на тлі гострого деструктивного панкреатиту. У 35 хворих (63,6 %) виявлено абдомінальний сепсис, які утворили основну групу. Діагноз АС стверджували за наявності гострого інфекційного запалення органів черевної порожнини та щонайменше двох критеріїв ССЗВ [1]. Виникнення поліорганної дисфункції у хворих на АС знаменувало появу тяжкого сепсису, триваючої гіпотонії всупереч інтенсивній інфузійній терапії та застосуванню вазопресорів – септичний шок. Місцевий перитоніт виявлено у 21 пацієнта (38,2 %), серед них 10 (47,6 %) з ГХ та 11 (52,4 %) з ГА. Дифузний перитоніт констатовано у 8 (14,6 %) пацієнтів, серед них 4 (50 %) з ПВ шлунка або дванадцятипалої кишки, 4 (50 %) – ГХ. Інфікований панкреонекроз було діагностовано у 6 (10,9 %) пацієнтів. Контрольну групу склали 20 пацієнтів (36,4 %) без ознак сепсису.

Клітинні показники імунної системи оцінювали за допомогою лейкограми, кількості та функціональної активності нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів, використовуючи метод проточної цитофлуориметрії (Bekton Dickenson, США) та відповідних наборів реактивів для фагоцитів – «Phagotest», «Phagoburstest» у спонтанних та стимуляційних умовах, а також моноклональних антитіл – для лімфоцитів та їх активованих регуляторних субпопуляцій (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16/56⁺, CD19⁺, CD4⁺CD25⁺127⁺, CD4⁺CD25⁺127⁻, CD4⁺CD25⁻127⁻). Статистичний аналіз проводили у програмі Statistica 6.0. Отримані результати представлено у вигляді середнього арифметичного. Вірогідність різниць між показниками у групах розраховували за методами χ^2 та Стьюдента. Кореляції вираховували за методом Пірсона.

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті аналізу захоплюючої та оксидантної активності нейтрофілів і моноцитів крові пацієнтів з гострою хірургічною абдомінальною патологією за допомогою фаго- та бустер-тестів було виявлено певні особливості їх фагоцитарної системи (табл. 1).

Так, було встановлено значиме посилення резервної захоплюючої активності моноцитів крові пацієнтів з АС до (91,2±3,01) % у порівнянні з пацієнтами без АС, в яких індукований фагоцитарний показник моноцитів склав (80,6±4,30) % (p<0,05). У той же час оксидантна – «кілінгова» активність цих клітин за умов їх стимуляції у септичних пацієнтів була істотно зниженою і становила (54,5±3,92) % (p<0,05).

Спонтанні та індуковані захоплюючі здатності нейтрофілів, а також їх спроможність до «оксидантного» мали тенденції до збільшення у септичних хворих (p>0,05).

Таблиця 1

Порівняльна характеристика показників фагоцитозу в групах хворих (M±m)

Показники		Пацієнти без АС n=20	Пацієнти з АС n=35	p
Фаго-тест				
нейтрофіли	спонтанний (%)	9,5±0,12	11,2±2,61	p>0,05
	індукований (%)	93,5±6,61	95,8±4,97	p>0,05
моноцити	спонтанний (%)	18,2±2,61	20,1±3,24	p>0,05
	індукований (%)	80,6±4,30	91,2±3,01	p<0,05
Бустер-тест				
нейтрофіли	спонтанний (%)	10,1±3,20	15,4±4,42	p>0,05
	індукований (%)	92,9±10,61	99,2±8,85	p>0,05
моноцити	спонтанний (%)	14,9±4,50	11,3±2,94	p>0,05
	індукований (%)	66,2±3,29	54,5±3,92	p<0,05

У пацієнтів з АС було встановлено зниження абсолютної кількості лімфоцитів (p<0,05) з тенденцією до зниження відносного їх кількості (p>0,05). Особливостей кількісного складу різних видів лімфоцитів та субпопуляцій Т-лімфоцитів у пацієнтів з АС та без його проявів не було встановлено у двох групах пацієнтів, хоча прослідковувалась тенденція до зниження Т-, В-, НК-лімфоцитів та цитотоксичної субпопуляції Т- лімфоцитів за умов розвитку септичних процесів у обстежених пацієнтів (табл. 2).

У той же час функціональна активність Т-лімфоцитів, яку репрезентували різні субпопуляції регуляторних клітин, була значно змінена у пацієнтів з АС. Так, встановлено, що активність CD4⁺CD25⁺127⁺(mid) – адаптивних Т-регуляторних лімфоцитів, які продукують одночасно трансформуючий фактор росту – β (ТФР- β) та інтерлейкін-10 (ІЛ-10), є істотно вищою у хворих на АС і становить (69,2±3,15) % у порівнянні з хворими з гострою абдомінальною патологією без проявів сепсису ((60,9±2,61) %; p<0,05). Активність CD4⁺CD25⁺127⁻high – Т1-регуляторних лімфоцитів, які продукують ІЛ-10 у двох групах обстежених не відрізнялася. Функціональна активність CD4⁺CD25⁻127⁻ – Т2-регуляторних лімфоцитів, які продукують лише ТФР- β була значимо підвищена в хворих на АС (29,5±1,32) % у порівнянні з хворими без його проявів ((20,2±1,29) %; p<0,01).

Проведений кореляційний аналіз показав, що індукований фагоцитарний показник моноцитів корелює з кількістю лімфоцитів крові (r=-0,48), спонтанний показник оксидантної активності нейтрофілів – з кількістю моноцитів крові (r=-0,43), а Т2-регуляторні лім-

фоцити – теж з кількістю лімфоцитів крові ($r=-0,44$).

Таблиця 2

Порівняльна характеристика показників лімфоцитів в групах хворих ($M \pm m$)

Показники	Пацієнти без АС n=20	Пацієнти з АС n=35	P
CD 3 ⁺ (%)	65,5±5,12	61,2±4,61	p>0,05
CD4 ⁺ (%)	33,5±2,61	39,8±2,97	p>0,05
CD8 ⁺ (%)	18,2±1,61	15,1±1,24	p>0,05
CD19 ⁺ (%)	15,6±2,34	11,2±3,01	p>0,05
CD16 ⁺ /56 ⁺ (%)	7,12±1,20	5,48±0,92	p>0,05
CD4 ⁺ CD25 ⁺ 127 ⁻ hig (%)	4,42±0,54	3,31±0,42	p>0,05
CD4 ⁺ CD25 ⁺ 127 ⁻ mid (%)	60,9±2,61	69,2±3,15	p<0,05
CD4 ⁺ CD25 ⁻ 127 ⁻ mid (%)	20,2±1,29	29,5±1,32	p<0,01

Відомо, що тривала висока фагоцитарна та ферментативна активність нейтрофілів і моноцитів створює сприятливі умови для розвитку системної запальної відповіді [5, 6]. Проведений нами детальний аналіз резервних можливостей цих клітин показав, що потенційна «кілінгова» оксидантна активність моноцитів знижується у септичних хворих, і, ймовірно, компенсаторно посилюється їх захоплююча функція, а також активність нейтрофілів за умов септичного процесу, що підтверджують дані фаго- та бустер-тестів, зумовлюючи активне виділення прозапальних цитокінів ІЛ-1, ТНФ- α , ІЛ-8 тощо.

Абсолютна лімфопенія є важливим предиктором тяжкості перебігу сепсису та маркером ризику летальності [9]. Наші дослідження показали взаємозв'язок її з резервним функціональним станом захоплюючої здатності моноцитів та активністю Т2-регуляторних лімфоцитів. Так, компенсаторне збільшення потенційної захоплюючої здатності макрофагів крові та посилення активності субпопуляції Т-регуляторних лімфоцитів, які продукують ТФР- β , на тлі наростаючої лімфопенії веде дотяжкого набутого імунодефіцитного порушення. У той же час фенотипування популяцій та субпопуляцій лімфоцитів за умов АС показало, що кількісний склад цих клітин не показово відрізняється у досліджуваних хірургічних хворих з гострою абдомінальною патологією, що відповідає результатам низки досліджень [3, 7, 8].

Цей феномен можна пояснити глибинними регуляторними перебудовами в імунній клітинній відповіді, щоб якомога ефективніше зберегти кількісний склад різних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів у екстремальних умов сепсису для забезпечення їх функцій. У той же час, кількість активованих регуляторних Т-клітин є істотно підвищеною, зокрема їх субпопуляцій: адаптивної ($p<0,05$) та Т2-регуляторної ($p<0,05$) у пацієнтів з АС у порівнянні з пацієнтами без проявів АС. Ці клітини-продуценти основного прозапального цитокіну ТФР- β та частково ІЛ-10, які регулюють усі запальні реакції, особливо за умов системних їх проявів. Надмірна активність цих клітин призводить до супресії імунної відповіді та формування вторинного імунодефіциту. В залежності від тривалості активності цих клітин та «висоти» їх активації створюються умови для розвитку лімфопенічного синдрому та виснаження потенціалу функціональної здатності мононуклеарів, що є предикторами розвитку септичного шоку та підвищеної летальності таких хворих [7]. Імунно-регуляторна відповідь при АС є ще до кінця не зрозумілою, через це майбутні дослідження повинні бути сконцентровані в напрямку глибинного вивчення клітинних та цитокінових регуляторних механізмів імунної відповіді, що дозволить прогнозувати ризики формування АС та розробити ефективні стратегії його лікування

Висновки

У пацієнтів з АС наявне посилення стимульованої фагоцитарної здатності моноцитів на тлі зниженої їх резервної оксидантної активності, що підтверджується оберненою кореляцією цього показника до кількості моноцитів у крові ($r=-0,43$).

Встановлено збільшення активованих адаптивних CD4⁺CD25⁺127⁻ регуляторних лімфоцитів ($p<0,05$) та CD4⁺CD25⁻127⁻ – дистанційних Т2-регуляторних лімфоцитів ($p<0,01$) у пацієнтів з АС.

Кореляційний аналіз засвідчив, що лімфопенія у хворих на АС супроводжується високими показниками стимульованого фагоцитарного тесту моноцитів та активності Т2-регуляторних лімфоцитів.



ЛИТЕРАТУРА

1. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1 / J. Pillay, V. M. Kamp, E. Hoffen [et al.] // Journal of Clinical Investigation. — 2012. — Vol. 122. — P. 327–336.
2. Chalupka A. N. The economics of sepsis / A. N. Chalupka, D. Talmor // Critical Care Medicine. — 2012. — Vol. 28. — P. 57–76.
3. Decreased expression of the fractalkine receptor CX3CR1 on circulating monocytes as new feature of sepsis-induced immunosuppressant / A. Pachot, M. A. Cazalis, F. Venet [et al.] // Journal of Immunology. — 2008. — Vol. 180. — P. 6421–6429.
4. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis / R. C. Bone, R. A. Balk, F. B. Cerra [et al.] // The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. — 1992. — Vol. 101. — P.1644–1655.
5. Immuno-inflammatory Response in Critically Ill Patients: Severe Sepsis and/or Trauma / M. Surbatovic, M. Veljovic, J. Jevdjic [et al.] // Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation. — 2013. — 350 p.
6. Nathan C. Points of control in inflammation / C. Nathan // Nature. — 2002. — Vol. 420. — P. 846–852.
7. PD-L1 blockade improves survival in experimental sepsis by inhibiting lymphocyte apoptosis and reversing monocyte dysfunction / Y. Zhang, Y. Zhou, J. Lou [et al.] // Critical Care Medicine. — 2010. — Vol. 14. — P. 220–225.
8. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality / M. Drewry, S. Navdeep, L. Skrupky [et al.] // SHOCK. — 2014. — Vol.42. — P. 383–391.
9. Weber G. F. Immunopathogenesis of abdominal sepsis / G. F. Weber, K. S. Filip // Langenbecks Archives of Surgery. — 2014. — Vol. 399. — P. 1–9.

ОСОБЕННОСТИ
ИММУННЫХ
КЛЕТОЧНОЗАВИСИМЫХ
МЕХАНИЗМОВ
У ПАЦИЕНТОВ
С АБДОМИНАЛЬНЫМ
СЕПСИСОМ

*Б. А. Матвийчук,
А. В. Лукавецкий,
В. Ю. Федоров*

Резюме. Проведен анализ клеточных показателей иммунной системы 55 пациентов с острой абдоминальной хирургической патологией. Установлено, что у больных с абдоминальным сепсисом (АС) наблюдается повышение стимулированного показателя фагоцитов ($p < 0,05$) и ослабление резервной оксидантной активности этих клеток ($p < 0,05$) по сравнению с группой пациентов без признаков абдоминального сепсиса. Выявлено увеличение количества активированных регуляторных адаптивных Т-лимфоцитов ($p < 0,05$), значительное повышение активности Т2-регуляторных лимфоцитов ($p < 0,01$) в группе пациентов с АС. Таким образом, констатировано дисбаланс мононуклеарного звена иммунной системы, которое создает условия для формирования иммунодефицитного нарушения с риском развития тяжелого сепсиса и септического шока, требующего использования иммунотропной терапии на ранних этапах заболевания.

Ключевые слова: острая абдоминальная хирургическая патология, абдоминальный сепсис, клетки иммунной системы.

FEATURES OF IMMUNE
CELL DEPENDENT
MECHANISMS IN PATIENTS
WITH ABDOMINAL SEPSIS

*B. A. Matviychuk,
A. V. Lukavetskiy,
V. Yu. Fedorov*

Summary. The analysis of immune system cell indicators in 55 patients with acute abdominal surgical pathology was performed. It was found that in patients with abdominal sepsis (AS) an increase of stimulated phagocytes index ($p < 0.05$) and the weakening of the reserve oxidant activity of these cells ($p < 0.05$) compared with patients with no signs of abdominal sepsis is observed. An increase in the number of activated adaptive regulatory T cells ($p < 0.05$), a significant increase in the activity of T2-regulatory lymphocytes ($p < 0.01$) in patients with AS is revealed. Thus, an imbalance of the mononuclear link of immune system is shown, which creates conditions for the formation of immunodeficiency disorders with a risk of severe sepsis and septic shock, requiring the use of immunotropic therapy in the early stages of the disease.

Key words: acute abdominal surgical pathology, abdominal sepsis, immune system cells.