

Влияние эндотоксина грамотрицательных бактерий на состояние иммунологической реактивности у больных с ишемической болезнью сердца в ранние сроки после аортокоронарного шунтирования

Л.Л.Воронцова, А.М.Смолина

Запорожская медицинская академия последипломного образования,
кафедра клинической лабораторной диагностики
Запорожье, Украина

Избыток липополисахарида в системном кровотоке и недостаточность эндотоксинсвязывающей системы обуславливают развитие эндотоксиновой агрессии, являющейся фактором развития множества патологических процессов. Целью исследования явилось выявление влияния эндотоксина грамотрицательных бактерий на иммунологическую реактивность больных с ишемической болезнью сердца в раннем периоде после аортокоронарного шунтирования. Обследовано 30 доноров и 45 больных с ишемической болезнью сердца до и в ранние сроки (1, 3 и 5 сутки) после операции. Установлено, что после аортокоронарного шунтирования на фоне высоких значений уровня эндотоксина и снижения титра антител к липополисахариду наблюдаются изменения со стороны клеточного звена иммунной системы, которые можно охарактеризовать как состояние тяжелой иммунодепрессии.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, аортокоронарное шунтирование, эндотоксин, антитела к липополисахариду, клеточное звено иммунной системы.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система играет ключевую роль в обеспечении восстановления гомеостаза организма и минимизации последствий практически любого патологического процесса, исход которого во многом зависит от адекватного

функционирования различных звеньев иммунитета [2].

При этом патогенетическая сущность изменений, наблюдаемая в иммунной системе больных кардиохирургического профиля, на сегодняшний день все еще четко не определена. Отсутствие целостного представления о характере иммунодепрессии затрудняет прогнозирование исхода заболевания, обоснования и выбора методов лечения [3].

Избыток липополисахаридов (ЛПС) в системном кровотоке и недостаточность эндотоксинсвязывающих систем обуславливает развитие эндотоксиновой агрессии, которая является универсальным фактором повреждения и участвует в патогенезе самых разнообразных патологий организма [4], этиология которых может быть представлена различными грамотрицательными бактериями.

Особый интерес (в связи с недостаточной изученностью) представляет выявление характера иммунологической реактивности и изменений в состоянии эндотоксинсвязывающей системы в послеоперационном периоде в зависимости от видов проведенного лечения. Остаются неизвестными механизмы иммунной реактивности, развивающейся в зависимости от количества кишечного эндотоксина — ЛПС, который может приводить ее как к активации, так и к супрессии.

Необходимо рассмотреть сердечно-сосудистые эффекты эндотоксина, так как он способен вызывать повреждения эндотелия сосудов [5], обладает вазодилатирующим действием [6], снижает сократимость миокарда [7]. В то же время есть данные об уменьшении выраженности ишемических реперфузионных повреждений сердечной мышцы при снижении

экспрессии TLR4 (Toll-like Receptor 4) сигнального рецептора, опосредующего иммунологические эффекты эндотоксина [8, 9].

В литературе имеются единичные сообщения о концентрации эндотоксина и состоянии эндотоксинсвязывающей системы, в частности у больных инфарктом миокарда, тогда как полностью отсутствуют сведения о концентрации антител к ЛПС грамотрицательных бактерий у больных кардиохирургического профиля, перенесших аортокоронарное шунтирование (АКШ).

Целью исследования было установление влияния эндотоксина грамотрицательных бактерий кишечной микрофлоры на состояние клеточного иммунитета у больных с ишемической болезнью сердца после операции аортокоронарного шунтирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 45 мужчин в возрасте 35-65 лет с диагнозом ишемическая болезнь сердца (ИБС), стенокардия напряжения II-III функционального класса, СН I-II стадии. Диагноз стенокардия напряжения был установлен на основании рекомендаций Украинской ассоциации кардиологов (2004 г.). Нами были обследованы большие отделения сосудистой хирургии областной клинической больницы г. Запорожье.

Контрольную группу (1 группа) составили 30 доноров (практически здоровые люди).

Всем больным на дооперационном этапе с целью определения степени стеноза коронарных артерий и возможности проведения реваскуляризации миокарда была проведена коронарография, они и составили 2 группу.

3 группу составили 15 человек, которым было выполнено АКШ на 2-х и более коронарных артериях, в которых степень стеноза превышала 50%.

Для оценки состояния клеточного иммунитета проводили определение субпопуляций лимфоцитов с использованием моноклональных антител к антигенам CD_3^+ (Т-лимфоциты), CD_4^+ (Т-хелперы), CD_8^+ (Т-супрессоры), CD_{16}^+ (NK-клетки), а также путем расчета иммунорегуляторного индекса CD_4^+/CD_8^+ , CD_{22}^+ (В-лимфоциты).

Для оценки нарушений иммунной системы использовали универсальный метод оценки иммунных расстройств, разработанный профессором А.М.Земсковым [1]. Степень иммунных расстройств для этой цели рассчитывалась по предложенной формуле автора: (Показатель конкретного больного / Показатель, принятый за норму) – 1) * 100%

В случае получения положительных значений оценивали степень активации (стимуляции) иммунной системы, при отрицательных значениях – степень иммунной недостаточности. Если полученные значения лежат в интервале 1-33% – это соответствует первой (1) степени иммунных расстройств, от 34 до 66% – второй (2) степени иммунных расстройств, в пределах 67-100% и выше – третьей (3) степени иммунных расстройств.

Определение суммарной концентрации эндотоксина грамотрицательных бактерий в сыворотке крови осуществляли при помощи Микро-ЛАЛ-теста (Патент РФ №2169367).

Определение интегральных показателей активности гуморального звена антиэндотоксинсвязывающей системы выполняли при помощи метода «СОИС-ИФА» (Патент РФ №2011993).

Статистическая обработка цифровых данных проводилась с использованием пакета программ «SPSS 13 for Windows». Для групп вычислялись средние значения показателей и их стандартные ошибки ($M \pm m$). Для сравнения средних величин использовали непараметрические критерии Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволили установить, что общая концентрация эндотоксина (КЭ) в крови больных на дооперационном этапе превышала значения доноров на 103%, тогда как титр антител к гликолипиду Re-хемотипа (ГЛП) был снижен на 48%, а титр антител к E.coli (ОАЭ) практически соответствовал значениям доноров (увеличение составило лишь 3%) (табл. 1).

Состояние Т-клеточной системы на дооперационном этапе характеризовалось снижением процентного содержания как зрелых Т-лимфоцитов (CD_3^+), так и их субпопуляций: Т-лимфоцитов с хелперной (CD_4^+) и Т-лимфоцитов с супрессорной функциями (CD_8^+) на 49%, 36% и 30% соответственно по отношению к показателям доноров, в то время как коэффициент регуляции Тх/Тс оставался в пределах нормы. Содержание NK-клеток (CD_{16}^+) также было снижено на 30%, В-лимфоцитов (CD_{22}^+) – на 19% соответственно (табл. 2).

Для оценки степени расстройств иммунной системы на дооперационном этапе на основании полученных результатов было выведено следующее соотношение: $CD_3^{+2} CD_4^{+2} CD_8^{+3} CD_{16}^{+1} CD_{22}^{+1}$, что позволило выявить у этих больных 1-3 степень иммунных расстройств.

ТАБЛИЦА 1

Состояние эндотоксин-связывающей системы у больных с ИБС 3 группы (M±m)

Показатели	Доноры (n=30)	До операции (n=45)	После операции		
			1 день (n=15)	3 день (n=15)	5 день (n=15)
КЭ, Еу/ml	0,19±0,03	1,97±0,2*	2,6±0,03*	1,8±0,02*	2,25±0,9*
Титр антител к ГЛП, у.е.о.п.	195,1±0,4	104,2±7,2*	146,6±12,4***	144,6±10,3***	183,6±11,8**
Титр антител к ОАЭ, у.е.о.п.	389,5±0,8	402,0±11,3	471,0±13,7*	459,0±14,2***	451,6±12,3***

Примечания: * – p<0,05 по отношению к донорам; ** – p<0,05 по отношению к дооперационным значениям.

Таким образом, предоперационный стресс, обусловленный страхом перед операцией, а также отек и ишемия стенки кишечника способствовали бактериальной транслокации, что приводило к высвобождению эндотоксина, который в свою очередь индуцировал иммунную воспалительную реакцию организма (синдром системного воспалительного ответа). Постоянная антигенная стимуляция приводила к резкому истощению иммунной системы.

У больных 3 группы (табл. 1) отмечено увеличение КЭ в 1, 3 и 5 дни по отношению к значениям доноров на 1368%, 947% и 1184% соответственно; по отношению к дооперационным значениям в 1 и 5 дни отмечено увеличение на 31% и 14% соответственно, а на 3 день – тенденция к снижению (лишь на 9%).

Титр антител к ГЛП был снижен в 1 и 3 дни по отношению к значениям доноров на 25% и 26% соответственно, а на 5 день отмечена лишь тенденция к снижению (ниже на 6%). По отношению к дооперационным значениям наблюдали превышение показателей во все сроки исследования (на 40%, 38% и 24% соответственно).

Титр антител к ОАЭ в 1, 3 и 5 дни был однонаправленно увеличен как по отношению к значениям доноров (на 20%, 17% и 15% соответственно), так и по отношению к дооперационным (на 17%, 14% и 12% соответственно).

У больных 3 группы (табл. 2) отмечалось снижение общего количества Т-лимфоцитов с фенотипом CD₃⁺ по отношению к значениям доноров на протяжении всего периода исследования: в 1 день после операции снижение составило 61%, на 3 и 5 дни – 32% и 32% соответственно. По отношению к дооперационным показателям на 3 и 5 дни превышение составило 36% и 36% соответственно.

Количество Т-лимфоцитов с хелперной функцией и фенотипом CD₄⁺ было снижено по отношению к значению доноров на 1 и 3 дни на 41% и 32% соответственно с тенденцией к нормализации на 5 день (снижение составило 14%). В 1 день была отмечена тенденция к повышению показателей по отношению к дооперационным значениям на 13%, тогда как на 3 и 5 дни увеличение составило 87% и 137% соответственно.

Уровень Т-лимфоцитов с фенотипом CD₈⁺, отображающим супрессивную функцию, был снижен на всех этапах исследования (1, 3, 5 дни) по отношению к значениям доноров на 52%, 16% и 40% соответственно, тогда как по отношению к дооперационным значениям было отмечено повышение на 52%, 177% и 97% соответственно.

Полученные данные о количестве Т-лимфоцитов с хелперной и супрессорной функцией, используя иммунорегуляторный коэффициент (CD₄⁺/CD₈⁺), дали возможность выявить его изменения на протяжении всего периода исследования.

ТАБЛИЦА 2

Динамика показателей Т- и В-клеточного иммунитета у больных с ИБС 3 группы (M±m)

Показатели	Доноры (n=30)	До операции (n=45)	После операции		
			1 день (n=15)	3 день (n=15)	5 день (n=15)
CD ₃ ⁺ (%)	65,3±1,3	32,3±0,2*	26,0±0,1*	44,7±1,0**	44,0±1,2
CD ₄ ⁺ (%)	39,3±1,2	14,3±0,1*	16,3±0,09*	26,8±0,9*	34,0±1,0
CD ₈ ⁺ (%)	32,6±1,1	10,0±0,02*	15,2±1,1*	27,7±0,7**	19,7±0,3
CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	1,2±0,5	2,0±0,01*	1,4±0,02**	1,1±0,01**	2,5±0,01
CD ₁₆ ⁺ (%)	18,1±1,0	12,7±0,1*	19,3±0,1	17,5±0,4	20,0±0,4**
CD ₂₂ ⁺ (%)	22,3±1,2	18,2±0,4	12,6±0,3	21,2±0,8	19,7±1,0

Примечания: * – p<0,05 по отношению к донорам; ** – p<0,05 по отношению к дооперационным значениям.

Была выявлена тенденция к его увеличению на 1 и 3 дни на 16% и 9% соответственно, тогда как на 5 день увеличение составило 108% по отношению к значениям доноров.

По отношению к группе дооперационных больных наблюдалась иная динамика. Так, на 1 и 3 дни иммунорегуляторный коэффициент был снижен на 30% и 45% соответственно, тогда как на 5 день увеличение составило 25%.

Динамика Т-лимфоцитов с фенотипом CD_{16}^{+} , характерным для естественных киллеров, носила «волнообразный» характер по отношению к значениям доноров: в 1 день отмечалась тенденция к увеличению на 6%, на 3 день — к снижению на 3% и повторная тенденция к увеличению на 11% на 5 день. По отношению к дооперационным значениям на всех этапах исследования отмечалось увеличение на 51%, 37% и 57% соответственно.

В 1 день отмечалось снижение количества В-лимфоцитов с фенотипом CD_{22}^{+} на 44% по отношению к донорам и снижение на 31% по отношению к дооперационным значениям. На 3 день показатели практически соответствовали значению доноров и были увеличены на 16% по отношению к дооперационным значениям. На 5 день наблюдалась тенденция к снижению (на 12%) и тенденция к увеличению по отношению к дооперационным значениям (на 8%).

Для 1 дня после операции на основании полученных данных были выведены следующие показатели расстройств иммунной системы: CD_3^{+2-} CD_4^{+2-} CD_8^{+2-} CD_{16}^{+6-} CD_{22}^{+2-} , что соответствовало II степени иммунной недостаточности.

На 3 день: CD_3^{+1-} CD_4^{+1-} CD_8^{+1-} CD_{16}^{+3-} CD_{22}^{+1-} , что соответствовало I степени иммунной недостаточности.

На 5 день: CD_3^{+1-} CD_4^{+1-} CD_8^{+2-} CD_{16}^{+10-} CD_{22}^{+1-} , что соответствовало I-II степени иммунной недостаточности.

Таким образом, на протяжении всего периода исследования (1, 3 и 5 дни) было выявлено снижение содержания общего количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций и В-лимфоцитов. Полученные результаты свидетельствуют о проявлении вторичного иммунодефицита с различной степенью иммунной недостаточности, имевшего место уже на дооперационном этапе и, по-видимому, усугубившегося после проведения оперативного лечения (любое оперативное вмешательство способствует повышению концентрации эндотоксина в крови с одновременным усилением процесса потребления антиэндотоксиновых антител [3, 4]).

ВЫВОДЫ

1 Наличие иммунодефицитного состояния, скорее всего, является следствием эндотоксической агрессии и объясняется накоплением в крови эндотоксинов в количествах, превышающих эндотоксинсвязывающие возможности крови, что приводит к резкому истощению иммунной системы.

2 Целью дальнейших исследований будет выявление этиологии развития эндотоксической агрессии у больных данного контингента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Земсков В.М. Принципы дифференцированной иммунокоррекции / В.М.Земсков, А.М.Земсков // Иммунология. — 1996. — №3. — С. 4-6.
2. Состояние гуморального антиэндотоксического иммунитета у больных инфарктом миокарда с сопутствующим сахарным диабетом / А.В.Ушаков, В.Ф.Кубышкин, А.И.Гордиенко [и др.] // Серце і судини. — 2006. — №2. — С. 69-75.
3. Силаев А.А. Исследование некоторых показателей иммунного статуса / А.А.Силаев, Е.П.Турмова // Росс. кард. ж. — 2005. — №5. — С. 132-137.
4. Яковлев М.Ю. «Эндотоксическая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных / М.Ю.Яковлев // Успехи совр. биологии. — 2003. — №1. — С. 31-40.
5. Эндотоксин-индуцированные повреждения эндотелия / М.Ю.Яковлев, В.Г.Лиходед, И.А.Алиховская [и др.] // Арх. пат. — 1996. — №2. — С. 41-45.
6. Takahashi Y. Decreased modulation by lipopolysaccharide of aortic smooth muscle contractility in streptozotocin-induced hyperglycemic rats / Y.Takahashi, M.Negoro, I.Wakabayashi // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2003. — Vol. 41. — P. 162-170.
7. Endotoxin-induced myocardial dysfunction: evidence for a role of sphingosine production / R.Favory, S.Lancel, P.Marchetti [et al.] // Crit. Care Med. — 2004. — Vol. 32. — P. 495-501.
8. Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice / J.Oyama, C.Jr.Blais, X.Liu [et al.] // Circulation. — 2004. — Vol. 109. — P. 784-789.
9. Induction of proliferation and cytokine production in human T-lymphocytes by lipopolysaccharide / A.J.Ulmer, H.D.Flad, Th.Rietschel [et al.] // Toxicology. — 2000. — Vol. 152. — P. 37-45.

Л.Л.Воронцова, А.М.Смоліна. Вплив ендотоксину грамнегативних бактерій на стан імунологічної реактивності у хворих на ішемічну хворобу серця в ранні строки після аортокоронарного шунтування. Запоріжжя, Україна.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, аортокоронарне шунтування, ендотоксин, анти-

тіла до ліпополісахариду, клітинна ланка імунної системи

Надлишок ліпополісахариду в системному кровоотоку та недостатність ендотоксинзв'язуючої системи призводять до розвитку ендотоксичної агресії, яка є фактором багатьох патологічних процесів. Метою дослідження було виявлення впливу ендотоксину грамнегативних бактерій на стан імунологічної реактивності у хворих на ішемічну хворобу серця в ранньому періоді після аортокоронарного шунтування. Обстежено 30 донорів і 45 хворих на ішемічну хворобу серця перед і в ранні строки (1, 3 і 5 доба) після операції. Встановлено, що після аортокоронарного шунтування на тлі високих значень рівня ендотоксину і зниження титру антитіл до ліпополісахариду спостерігаються зміни з боку клітинної ланки імунної системи, які можна охарактеризувати як стан тяжкої імунодепресії.

L.L. Vorontsova, A.M. Smolina. Influence of endotoxin of gram-negative bacterium on a state of

immunologic reactivity at patients with ischemic heart disease in the early terms after cardiopulmonary by-pass. Zaporizhzhya, Ukraine.

Key words: ischemic heart disease, the cardiopulmonary by-pass, endotoxin, antibodies to lipopolysaccharide, a cellular link of immune system.

Excess of lipopolysaccharide in the systemic bloodstream and insufficiency of endotoxin-binding system causes development of endotoxin aggression being the factor of development of great number of pathological processes. The aim of research was revealing influence of endotoxin of gram-negative bacterium on immunologic reactivity of patients with ischemic heart disease in the early period after the cardiopulmonary by-pass. 30 donors and 45 patients with ischemic heart disease before and in early terms (1, 3 and 5 day) after operation had been examined. It was determined, that after the cardiopulmonary by-pass on a background of high values of endotoxin level and descent in a titer of antibodies to an lipopolysaccharide changes are observed on the part of cellular link of immune system which can be classified as a state of severe immune depression.

Надійшла до редакції 04.11.2010 р.