

УДК 616.366-003.7-089:612.017.1

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ОБЩЕГО И МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ДО И ПОСЛЕ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ

П.В. Гарелик, В.М. Шейбак, В.Л. Мороз,
Э.В. Могилевец, М.В. Горецкая

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Проведено исследование общего и местного иммунитета у больных желчнокаменной болезнью на фоне лапароскопической холецистэктомии. Изучение показателей местного иммунитета в биологических средах, максимально приближенных к очагу воспаления, является высокоинформативным и чувствительным методом и может использоваться для оценки течения послеоперационного процесса.

Ключевые слова: лапароскопическая холецистэктомия, общий иммунитет, местный иммунитет, перитонеальное отделяемое.

The research of system and local immunity was carried out in patients with cholelithiasis before and after laparoscopic cholecystectomy. The study of indices of local immunity in biological environments close to the centre of inflammation is a highly informative and sensitive method and can be used for the estimation of current postoperative process.

Key words: laparoscopic cholecystectomy, system immunity, local immunity, peritoneal fluid.

Частота послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений при хирургическом лечении желчнокаменной болезни (ЖКБ) составляет, по данным разных источников, 5-42,2% [4, 8]. Многими авторами показано, что еще до операции в иммунной системе больных ЖКБ имеются существенные нарушения, а хирургическая агрессия и наркоз являются причиной срыва неустойчивого равновесия параметров противoinфекционной защиты [2, 5, 6, 7].

Степень иммунодепрессии после лапароскопической холецистэктомии (ЛХЭ) зависит от вида анестезии, уровня интраабдоминального давления, использования электрокоагуляции либо ультразвукового скальпеля, наличия хронических заболеваний печени [17, 15, 20, 18]. При наличии в организме очага хронической либо острой инфекции характеристики иммунокомпетентных клеток и иммунологических молекул в нем могут значительно отличаться от характеристик тех же типов клеток и молекул, циркулирующих в крови [6, 11, 12]. Изучение процессов, происходящих в зоне оперативного вмешательства, наряду с исследованием параметров общего иммунитета позволит полнее раскрыть механизмы функционирования, своевременно выявлять возможные нарушения и проводить их коррекцию. Рядом авторов проведено исследование показателей местного иммунитета в перитонеальной жидкости при лейомиоме матки, эндометриозе, бесплодии как среде максимально приближенной к патологическому очагу. Показана высокая информативность полученных результатов для прогнозирования развития патологического процесса [1, 9, 10].

Целью работы явилось определение характеристик общего и местного иммунитета у больных ЖКБ на фоне оперативного лечения.

Материалы и методы исследований

Под наблюдением находилось 60 пациентов после лапароскопической холецистэктомии в возрасте от 23 до 74 лет. Средний возраст составил $51,4 \pm 1,51$ года. От 21 до 40 лет было 8 (13%) пациентов, от 41 до 60 лет – 37 (62%), старше 60 лет – 15 (25%). Мужчин было 8 (13%) женщин 52 (87%). Хронический калькулезный холецистит диагностирован у 45 (75%), острый – у 15 (25%). Средняя длительность заболевания желчнокаменной болезнью составила $3,95 \pm 0,65$ лет. До операции проводились стандартные общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. Всем пациентам выполнялась лапароскопическая холецистэктомия под эндотрахеальным наркозом. На основании гемограммы рассчитывались интегральные показатели: ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации и ГПИ – гематологический показатель интоксикации [4]. В венозной крови перед операцией, а также на первые сутки после нее, проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95). В сыворотке крови до и на первые сутки после операции измеряли гемолитическую активность комплемента и уровни циркулирующих иммунных комплексов [6], а также изучали функциональную активность нейтрофилов, включающую определение фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса нейтрофилов с культурой золотистого стафилококка. В жидкости, полученной по дренажу из подпеченочного пространства, через 12-24 часа после операции оп-

ределяли общее количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, проводили иммунофенотипирование лимфоцитов, определяли гемолитическую активность комплемента, уровни циркулирующих иммунных комплексов, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число. Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA 6.

Результаты исследований и их обсуждение

Продолжительность лапароскопической холецистэктомии в среднем составила $76,6 \pm 4,74$ мин. В 19 случаях во время лапароскопической холецистэктомии отмечены технические трудности. Причиной этого явилось в 2 (3%) случаях глубокое расположение желчного пузыря в печени, в 5 (8%) – склероатрофический «фарфоровый» желчный пузырь, в 3 (5%) – остаточные явления стихающего острого холецистита, воспалительный инфильтрат, создававший трудности как на этапе диссекции в области треугольника Кало, так и при отделении желчного пузыря от его ложа. В этой группе больных длительность операции составила $87,6 \pm 10,13$ мин. Дополнительный гемостаз ложа с помощью монополярной коагуляции понадобился в 9 (15%) случаях. В среднем количество отделяемого в послеоперационном периоде по дренажу из подпеченочного пространства составило $58,2 \pm 1,79$ мл, причем в группе с техническими трудностями и дополнительным гемостазом во время операции – $75,0 \pm 1,70$ мл, а в группе больных с типично протекавшим оперативным вмешательством $49,7 \pm 5,69$. ($p < 0,001$).

После операции отмечается статистически значимое снижение уровня гемоглобина, увеличение количества лейкоцитов, СОЭ, снижение процентного содержания базофилов, увеличение палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, снижение лимфоцитов, увеличение ЛИИ и ГПИ, что свидетельствует о реакции организма на операционную травму и косвенно характеризует протекающий в зоне оперативного вмешательства репаративный процесс. Сравнение изменения показателей общего анализа крови до и после операции при остром и хроническом холециститах не выявило статистически значимых различий. ЛИИ в большей степени увеличивался после операции по поводу острого холецистита ($p = 0,0366$).

При анализе показателей общего анализа крови до и после ЛХЭ в группе травматичных оперативных вмешательств выявлено статистически значимое увеличение числа лейкоцитов, в лейкоцитарной формуле уменьшение процентного содержания эозинофилов, базофилов, лимфоцитов, увеличение сегментоядерных нейтрофилов. Кроме

того, при сравнении изменения данных показателей при травматичных и не травматичных операциях выявлено статистически значимое большее повышение СОЭ ($p = 0,0001$) и процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов ($p = 0,0099$) и снижение лимфоцитов ($p = 0,0202$) в первой группе (в группе острых холециститов таких различий не отмечается). Отмечается также статистически значимое отличие ЛИИ и ГПИ ($p = 0,0347$ и $0,00347$) в сравниваемых группах.

Таким образом, интегральные показатели гемограммы достаточно информативны, что позволяет использовать их для оценки степени интоксикации, полноты выздоровления, эффективности лечения [3].

В послеоперационной зоне изучен клеточный состав жидкости из подпеченочного пространства.

Данные в жидкости, полученной по дренажу из подпеченочного пространства через 12-24 часа после операции, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Содержание и спектр лейкоцитов в перитонеальном отделяемом после ЛХЭ

Показатель	n	M±m
лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	8	$5,82 \pm 1,774$
эозинофилы, %	25	$1,8 \pm 0,22$
базофилы, %	25	$0,1 \pm 0,05$
палочкоядерные, %	25	$0,9 \pm 0,42$
сегментоядерные, %	25	$66,2 \pm 2,94$
лимфоциты, %	25	$27,9 \pm 3,32$
моноциты, %	25	$3,9 \pm 0,92$

При сравнении данных показателей в группах острого и хронического холецистита выявлено статистически значимое различие в процентном содержании сегментоядерных нейтрофилов: $69,43 \pm 2,36\%$ после хронического и $49,25 \pm 11,093\%$ после острого ($p = 0,0087$) и лимфоцитов: $44,75 \pm 12,835\%$ после острого холецистита и $24,67 \pm 2,789\%$ после хронического ($p = 0,0229$).

В венозной крови до лапароскопической холецистэктомии и в течение 12-24 часов после нее изучены показатели клеточного иммунитета (таблица 2).

Таким образом, в крови после операции отмечается повышение содержания нейтрофилов на $80,88\%$ и абсолютного количества лимфоцитов на 40% , а также снижение процентного содержания и абсолютного количества СДЗ-лимфоцитов наряду с тенденцией к снижению процентного содержания лимфоцитов на фоне низких значений до операции. Известно, что наличие длительного хронического воспалительного процесса оказывает негативное влияние на функциональное состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета вследствие резорбции из зоны воспаления токсических веществ, оказывающих повреждающее

Таблица 2. Показатели клеточного иммунитета в крови до и после ЛХЭ

Показатель	n	до операции	после операции	P
		M±m	M±m	
Нейтрофилы, %	11	60,3±2,09	68,4±1,45	0,2357
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	11	2,72±0,318	4,92±0,321	0,0026
Лимфоциты, %	11	29,4 ±2,52	21,1±0,87	0,1936
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	11	1,15±0,155	1,61±0,155	0,0212
СД 3, %	9	30,3±2,59	21,8±2,39	0,0431
СД 3, $\times 10^9/\text{л}$	9	0,368±0,0481	0,321±0,0355	0,0211
СД 4, %	9	29,0±4,31	21,8±2,11	0,2124
СД 4, $\times 10^9/\text{л}$	9	0,353±0,066	0,363±0,0312	0,9854
СД 8, %	9	19,1±2,96	15,0±1,33	0,5628
СД 8, $\times 10^9/\text{л}$	9	0,230±0,0405	0,266±0,0393	0,3802
СД 4/ СД 8	9	1,611±0,1670	1,355±0,1191	0,0898
СД 19, %	8	17,7±3,28	12,8±1,199	0,6674
СД 19, $\times 10^9/\text{л}$	8	0,205±0,0384	0,205±0,0241	0,9923
СД 16, %	8	20,6±3,54	17,0±2,44	0,7913
СД 16, $\times 10^9/\text{л}$	8	0,247±0,0585	0,274±0,0329	0,6332
СД 25, %	9	19,3±2,53	13,0±1,67	0,3732
СД 25, $\times 10^9/\text{л}$	9	0,238±0,0472	0,231±0,0373	0,6184
СД 95, %	7	32,7±4,36	28,1±1,91	0,8029
СД 95, $\times 10^9/\text{л}$	7	0,444±0,0866	0,392±0,0501	0,8001
фагоцитарное число	11	67,54±1,821	63,33±1,118	0,1155
фагоцитарный индекс	11	7,85±0,394	7,28±0,229	0,3694

действие, в первую очередь, на клетки печени и ретикулоэндотелиальной системы (клетки Купфера) [13]. Показано, что лапароскопическая холецистэктомия вызывает меньшее угнетение Т-клеточного звена в сравнении с открытой версией [19, 16]. В то же время уменьшение пролиферации Т-лимфоцитов после операции является одним из основных функциональных нарушений в иммунной системе, что связывают с послеоперационными осложнениями [14].

Корреляционный анализ выявил следующие зависимости показателей клеточного иммунитета в крови после операции: процентного содержания лимфоцитов от травматичности ($r = 0,568$, $p = 0,0189$); СД4-лимфоцитов от длительности течения ЖКБ ($r = -0,669$, $p = 0,0242$), длительности операции ($r = -0,743$, $p = 0,0138$), возраста ($r = 0,599$, $p = 0,0411$); СД8-лимфоцитов от длительности ЖКБ ($r = -0,604$, $p = 0,0492$), длительности операции ($r = 0,701$, $p = 0,0376$), возраста ($r = -0,821$, $p = 0,0036$); коэффициента СД4/СД8 от длительности ЖКБ ($r = 0,747$, $p = 0,0264$), длительности операции ($r = 0,809$, $p = 0,0146$), возраста ($r = 0,722$, $p = 0,0321$); СД19-лимфоцитов от длительности ЖКБ ($r = -0,608$, $p = 0,0471$), длительности операции ($r = -0,728$, $p = 0,0169$), возраста ($r = -0,721$, $p = 0,0186$); СД16, СД25-лимфоцитов, фагоцитарного числа от длительности ЖКБ ($r = -0,756$, $p = 0,0071$; $r = -0,629$, $p = 0,0383$ и $r = 0,999$, $p = 0,0239$ соответственно).

Непосредственно в очаге воспаления, которым в данном случае является зона оперативного вмешательства, были исследованы показатели клеточ-

ного звена иммунитета в жидкости, полученной по дренажу из подпеченочного пространства через 12-24 часа после операции. Содержание нейтрофилов составило $75,6 \pm 3,50\%$ ($5,62 \pm 2,269 \times 10^9/\text{л}$), лимфоцитов – $10,8 \pm 1,32\%$ ($0,550 \pm 0,1548 \times 10^9/\text{л}$), СД3-лимфоцитов – $44,5 \pm 2,79\%$ ($0,289 \pm 0,0962 \times 10^9/\text{л}$), СД4-лимфоцитов – $36,6 \pm 2,55\%$ ($0,318 \pm 0,0884 \times 10^9/\text{л}$), СД8-лимфоцитов – $34,7 \pm 2,44\%$ ($0,254 \pm 0,0833 \times 10^9/\text{л}$), СД4/СД8 – $1,24 \pm 0,054$, СД19-лимфоцитов – $26,4 \pm 2,03\%$ ($0,245 \pm 0,0884 \times 10^9/\text{л}$), СД16-лимфоцитов – $38,2 \pm 2,87\%$ ($0,267 \pm 0,0728 \times 10^9/\text{л}$), СД25-лимфоцитов – $20,3 \pm 2,46\%$ ($0,215 \pm 0,0999 \times 10^9/\text{л}$), СД95-лимфоцитов – $49,2 \pm 3,85\%$ ($0,288 \pm 0,1021 \times 10^9/\text{л}$). Тестирование функциональной активности нейтрофилов выявило значение фагоцитарного числа от 34 до 73 ($57,25 \pm 2,364$), фагоцитарного индекса от 4,2 до 8,8 ($6,27 \pm 0,309$).

При сравнении данных показателей в группах острого и хронического холецистита выявлено статистически значимое различие в процентном содержании СД16-лимфоцитов: $23,5 \pm 3,48\%$ при остром холецистите и $41,4 \pm 2,93\%$ при хроническом ($p = 0,0073$), СД95-лимфоцитов: $32,5 \pm 2,5\%$ при остром холецистите и $52,9 \pm 3,61\%$ при хроническом ($p = 0,0339$), а также коэффициента СД4/СД8: 0,9 при остром холецистите и 1,3 при хроническом ($p = 0,0128$).

При проведении корреляционного анализа показателей клеточного звена иммунитета в крови после операции и в перитонеальном отделяемом выявлены следующие зависимости одноименных показателей: абсолютного количества лимфоцитов ($r = -0,999$, $p = 0,019$), СД25-лимфоцитов ($r = -0,999$, $p = 0,014$) и процентного содержания СД95-лимфоцитов ($r = -0,999$, $p = 0,014$). Остальные показатели не коррелировали друг с другом, что может свидетельствовать о недостаточной информативности показателей общего иммунитета для характеристики процессов, происходящих непосредственно в зоне воспаления, и необходимости тестирования показателей иммунитета в средах, максимально приближенных к патологическому очагу.

В перитонеальном отделяемом выявлены зависимости: процентного содержания СД8 лимфоцитов от пола ($r = 0,932$, $p = 0,0018$); коэффициента СД4/СД8 от пола ($r = 0,693$, $p = 0,00384$), травматичности оперативного вмешательства ($r = 0,451$, $p = 0,0306$); СД19-лимфоцитов от длительности течения ЖКБ ($r = 0,973$, $p = 0,0134$), пола ($r = 0,986$, $p = 0,0069$), вида холецистита ($r = 0,512$, $p = 0,0184$); СД16-лимфоцитов от длительности ЖКБ ($r = -0,9$, $p = 0,0373$), вида холецистита ($r = 0,586$, $p = 0,0042$); СД25-лимфоцитов от пола ($r = 0,944$, $p = 0,028$), вида холецистита ($r = 0,239$, $p = 0,0097$); СД95-лимфоцитов от длительности ЖКБ ($r = 0,986$, $p = 0,0066$).

Уровень ЦИК и общая активность комплемен-

та в крови до и после операции существенно не изменились (таблица 3).

Таблица 3. Уровень ЦИК и общая активность комплемента до и после ЛХЭ

Показатель	n	до операции	после операции	P
		M±m	M±m	
ЦИК, ед	10	20,7±3,45	19,1±2,43	0,3114
комплемент, log ₂	11	2,29±0,23	2,55±0,227	0,0679
комплемент, CH ₅₀	11	43,48±3,256	44,88±3,506	0,0755

Для оценки функционирования гуморального звена иммунитета в зоне оперативного вмешательства была исследована жидкость, полученная по дренажу из подпеченочного пространства через 12-24 часа после операции. Уровень ЦИК составил 15,4±3,84 ед., общая активность комплемента 1,44±0,1.

При сравнении показателей крови и жидкости выявлены статистически значимые различия, а именно, снижение ЦИК в 1,2 раза (p=0,0444), и комплемента 2 раза (p=0,0004), что может свидетельствовать о возможности элиминации антигена за счет эффекторных факторов.

Выводы

1. Изучение спектра лейкоцитов в зоне оперативного вмешательства позволяет оценить течение репаративного процесса и характеризуется зависимостью от особенностей операции и ряда других факторов.

2. У пациентов с ЖКБ до оперативного вмешательства имеются существенные нарушения функционирования Т-клеточного звена иммунитета, которые усиливаются после операции.

3. В зоне оперативного вмешательства наблюдается экспрессия антигенов субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16) и отмечается их миграция в очаг воспаления наряду с повышением содержания лимфоцитов с рецептором к апоптозу.

4. Изучение показателей местного иммунитета в биологических средах, максимально приближенных к очагу воспаления, является высоко информативным и чувствительным методом и может использоваться для оценки течения послеоперационного процесса.

Литература

1. Аренадзе, И.Э. Особенности функционального состояния и апоптоза иммунокомпетентных клеток периферической крови и перитонеальной жидкости у женщин с лейомиомой матки: автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.00.01 / И.Э. Аренадзе; Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.И. Городкова. – Иваново, 2003. – 33 с.
2. Боев, С.Н. Комплексное лечение больных с желчнокаменной болезнью в раннем послеоперационном периоде с использованием иммунокоррекции: автореф. ... дис. канд. мед. наук:

- 14.00.27 / С.Н. Боев; Мед. акад. им. Н.Н. Бурденко. – Воронеж, 1998. – 24 с.
3. Васильев, А.В. Математическая обработка гемограммы – путь к повышению диагностической значимости / А.В. Васильев, В.С. Васильев // Медицинская панорама. – 2002. – № 8(23). – С. 27.
4. Гришин, И.Н. Холецистэктомия: Практ. пособие / И.Н. Гришин. – Минск: Выш. Шк., 1989. – 198 с.
5. Жарская, С.Л. Состояние факторов общего и местного иммунитета и микрофлора желчи у больных острым и хроническим холециститом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / С.Л. Жарская; Иркут. гос. мед. ин-т-Иркутск, 1994. – 24 с.
6. Караулов, А.В. Клиническая иммунология и аллергология: учебное пособие / А.В. Караулов, А.М. Земсков, В.М. Земсков; под ред. А.В. Караулова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2002. – 65 с.
7. Карсонова, Н.Г. Иммунокорректирующая терапия при хирургической инфекции / Н.Г. Карсонова, Б.В. Пинегин, Р.М. Хаитов // Анналы хир. гепатологии. – 1999. – Т. 4, №1. – С. 88-96.
8. Комплексный способ профилактики послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у больных острым холециститом: Метод. рекомендации / А.Н. Косинев [и др.] – Витеб. мед. ин-т, Респ. Науч.-практ. Центр «Инфекция в хирургии»: Витебск, 1996 – 17с.
9. Посисеева, Л.И. Иммунный статус перитонеальной жидкости у женщин с наружным эндометриозом, страдающих бесплодием / Л.И. Посисеева, А.М. Герасимова, А.Л. Шор // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 6. – С. 27-30.
10. Сравнительный анализ популяционного состава лимфоцитов периферической крови и перитонеальной жидкости при наружном генитальном эндометриозе / Н.Ю. Сотникова [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 1999. – Т. 4, № 1-2. – С. 39-42.
11. Тотолян, А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний / А.А. Тотолян // Мед. иммунология. – 1999. – Т.1, № 1-2. – С. 75- 106.
12. Хаитов, Р.М. Физиология иммунитета: Обзор литературы / Р.М. Хаитов // Аллергия, астма и клинич. иммунология. – 2000. – №2. – С. 3-16.
13. Biliary and serum immunoglobulin alterations in patients of chjlelithiasis / S.C. Kaushal [et al] // Indian J. Patol. Microbiol. – 1993. – Vol. 36, №3. – P. 268-273.
14. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery / T. Hensler [et al] // Infect. immunol. – Vol. 65. – P. 2283-2291.
15. Effects of low and high intra-abdominal pressure on immune response in laparoscopic cholecystectomy / E. Basgul [et al] // Saudi Med J. – 2004. – Dec; 25(12). – P. 1888-1891.
16. Evaluation of immune response in patients after open or laparoscopic cholecystectomy / M. Schietroma [et al] // Hepatogastroenterology. – 2001. – May-Jun; 48(39). – P. 642-646.
17. Stress, hemodynamic and immunological responses to inhaled and intravenous anesthetic techniques for video-assisted laparoscopic cholecystectomy / E. Graziola [et al] // Rev Esp Anesthesiol Reanim. – 2005. – Apr; 52(4). – P. 208-216.
18. Systemic and cell-mediated immune response after laparoscopic and open cholecystectomy in patients with chronic liver disease. A randomized, prospective study / S.B. Lausten [et al] // Dig Surg. – 1999. – 16(6). – P. 471-477.
19. Systemic immune response after laparoscopic and open cholecystectomy / S.M. Sheen-Chen [et al] // World J Surg. – 2002. – Dec; 26(12). – P. 1418-1422.
20. Ultrasonic energy vs monopolar electrosurgery in laparoscopic cholecystectomy: influence on the postoperative systemic immune response / C. Sietses [et al] // Surg Endosc. – 2001. – Jan; 15(1). – P. 69-71.

Поступила 13.01.07