

# Иммунопрофилактика гнойно-септических осложнений препаратом деринат при хирургическом лечении калькулезного холецистита

П.С. ЗУБЕЕВ, А.В. СТРАХОВ, В.Н. МАКСИМЫЧЕВ, И.М. МОТЫЛЕВ

## Immunoprophylaxis of purulent and septic complications with Derinat at surgical treatment of calculous cholecystitis

P.S. ZUBEEV, A.V. STRAKHOV, V.N. MAXIMYCHEV, I.M. MOTYLEV

Городская больница №33, Нижний Новгород; кафедра госпитальной хирургии им. Б.А. Королева Нижегородской государственной медицинской академии

### Введение

Вследствие развития вторичного иммунодефицита частота гнойно-септических осложнений при хирургическом лечении больных с хроническим и острым калькулезным холециститом составляет 3,9—14,6% [3] и не имеет тенденции к снижению. Особое место в профилактике данных осложнений занимает иммунопрофилактика [2]. В хирургической практике в последнее время при иммунопрофилактике гнойно-септических осложнений широко используют ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) — содержащие иммуномодуляторы [1, 5].

Цель настоящего исследования — изучение показателей иммунитета и клинических результатов у пациентов после хирургического вмешательства по поводу калькулезного холецистита.

### Материал и методы

Исследуемую группу составили 49 больных, которым проводилась иммунопрофилактика препаратом деринат в дозе 5 мл внутримышечно за 1 ч до холецистэктомии (ХЭ), а также на 3—4-е и 7-е сутки после нее. Контрольную группу составили 25 пациентов. По возрасту, полу, длительности заболевания и объему вмешательства группы были статистически сопоставимы. В качестве нормы использовали показатели иммунитета у 12 здоровых лиц.

Иммунологические показатели — гуморальное звено иммунитета, клеточный иммунитет с применением моноклональных антител (МКА), уровень растворимых дифференцировочных антигенов [1, 4]

— оценивались по завершении ХЭ, а также на 0, 3—4-е и 7-е сутки после операции.

Рассчитывали средние величины  $M \pm \sigma$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $\sigma$  — среднее квадратичное отклонение. При обработке использовали методы непараметрической статистики для связанных и несвязанных выборок с соответствующими критериями значимости и корреляции. Результаты исследования считались достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Больные контрольной группы изначально характеризовались более высокими уровнями по показателям CD38<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>-клеток и растворимого CD50 (Mann—Whitney,  $p < 0,05$ ) (табл. 1, 2, 3). При этом и в обеих группах показатели гуморального иммунитета (IgA, IgM, IgG) не изменялись и были в пределах нормы. Уровень ЦИК также оставался без изменений при стартовом снижении в 2 раза в контрольной группе (Mann—Whitney,  $p < 0,05$ ). Наши данные по этому показателю противоречат данным М.И. Громова (1998), где уровень ЦИК на 5—6-е сутки после введения дерината возрастал в 3 раза [1].

Уровень CD8<sup>+</sup>-клеток (цитотоксические Т-клетки) был в контрольной группе несколько завышен, с тенденцией к снижению, тогда как в исследуемой группе этот показатель, оставаясь в пределах нормы, имел тенденцию к увеличению (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

Показатель HLA-DR был выше нормы в обеих группах с тенденцией к увеличению, более выраженной в исследуемой группе на 31,5% на 7-е сутки (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Повышение уровня HLA-DR<sup>+</sup>-клеток при иммунопрофилактике деринатом может быть ассоциировано с повышением активности одной из популяций CD4<sup>+</sup> Т-хелперов — популяции Th1, отвечающей за состояние клеточного иммунитета. В частности, Th1-клетки активируют макрофа-

**Таблица 1. Иммунофенотип мононуклеарных клеток и показатели иммуноглобулина больных ЖКБ без иммунопрофилактики**

Показатель	Норма	После холецистэктомии, сут		
		0	3–4-е	7-е
HLA-DR, %	21,9±0,6	25,5±1,3	26,0±2,7	27,5±1,3
CD22	17,2±1,0	18,3±2,5	16,5±0,7	18,5±1,8
CD38	15,1±0,8	20,5±2,3	23,6±1,7*	19,7±2,7
CD8	21,5±0,9	27,4±2,5	23,8±1,9	25,0±0,7
HLA-A,B,C	59,3±1,7	52,4±5,1	46,5±4,0	37,8±1,2*
CD50	51,6±1,3	43,6±3,4	41,3±6,2	44,3±3,6
CD4	31,9±1,2	38,5±1,7	36,3±2,0	37,0±2,1
CD25	12,9±0,7	24,3±3,6	17,0±1,3	15,0±1,5
CD16	12,8±0,6	20,4±3,4	16,9±1,3*	18,0±1,2
CD95	39,5±1,7	31,9±5,0	23,1±0,7*	26,2±1,9
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,49±0,05	1,43±0,08	1,54±0,05	1,47±0,03
IgM, г/л	1,2±0,7	1,08±0,20	1,33±0,22	1,22±0,33
IgA	2,3±0,9	2,1±0,4	2,3±0,6	2,0±0,4
IgG	12,5±4,5	9,2±0,5	10,9±1,7	10,2±0,0
ЦИК, ед/л	78,2±10,1	40,2±9,9	33,0±5,8	44,3±12,5

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3, 4: \* —  $p < 0,05$ .

**Таблица 2. Иммунофенотип мононуклеарных клеток и показатели иммуноглобулина больных ЖКБ при иммунопрофилактике деринатом**

Показатель	Норма	После холецистэктомии, сут		
		0	3–4-е	7-е
HLA-DR, %	21,9±0,6	23,9±0,9	22,3±1,9	28,8±2,3*
CD22	17,2±1,0	16,1±0,2	16,1±1,3	17,5±1,7
CD38	15,1±0,8	17,2±2,6	17,3±2,4	16,6±3,4
CD8	21,5±0,9	22,7±1,6	23,6±1,6	24,3±3,3
HLA-A,B,C	59,3±1,7	47,7±5,3	38,3±4,9*	41,5±5,6*
CD50	51,6±1,3	39,2±6,0	33,8±3,4	37,3±1,3
CD4	31,9±1,2	32,8±1,9	34,0±2,7	33,8±3,7
CD25	12,9±0,7	14,8±1,8	15,3±0,6	14,5±2,6
CD16	12,8±0,6	18,4±2,5	22,3±2,7*	18,1±1,9
CD95	39,5±1,7	29,8±4,0	28,0±1,6	27,8±0,9
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,49±0,05	1,45±0,07	1,44±0,07	1,44±0,17
IgM, г/л	1,2±0,7	0,76±0,09	0,98±0,11	0,96±0,12
IgA	2,3±0,9	2,0±0,4	2,2±0,2	1,9±0,2
IgG	12,5±4,5	10,0±0,7	9,5±0,6	8,9±0,5
ЦИК, ед/л	78,2±10,1	81,7±15,8	70,1±5,3	68,3±9,9

ги, играющие существенную роль в реализации антибактериального иммунитета.

Обращает на себя внимание однонаправленное падение уровня мононуклеарных клеток, положительных по HLA-антигенам I класса в обеих группах. Вследствие низкой экспрессии HLA-антигенов I класса на части клеток в реакции непрямо́й имму-

нофлюоресценции выявляются лишь те клетки, которые экспрессируют эти молекулы более интенсивно. У больных, получавших деринат, падение экспрессии молекул гистосовместимости I класса было менее выражено.

CD38<sup>+</sup>-клетки повышены по сравнению с нормой у больных контрольной группы с тенденцией к

**Таблица 3. Уровень растворимых дифференцировочных антигенов у больных ЖКБ без иммунопрофилактики**

Показатель	Норма	После холецистэктомии, сут		
		0	3—4-е	7-е
sCD38	200,0±17,0	63,7±4,3	62,7±0,6	66,3±0,3
sCD50	353,0±65,0	392,5±51,0	380,0±42,7	370,3±69,5
sCD95	374,0±23,0	593±249,7	306,5±215,4*	320,0±239*
sHLA	1012,0±36,0	1405,2±517,3	1316,4±621,6	914,7±354,4*

**Таблица 4. Уровень растворимых дифференцировочных антигенов у больных ЖКБ при иммунопрофилактике деринатом**

Показатель	Норма	После холецистэктомии, сут		
		0	3—4-е	7-е
sCD38	200,0±17,0	71,3±3,6	67,8±4,8	68,3±3,1
sCD50	353,0±65,0	248,0±29,5	240,0±36,7	255,3±18,1
sCD95	374,0±23,0	359,1±84,2	429,6±113,0	356,1±105,6
sHLA	1012,0±36,0	887,2±130,3	882,9±167,4	828,2±138,9

повышению адгезии на 3—4-е и снижению на 7-е сутки. В исследуемой группе этот показатель изменялся менее существенно. Более яркая картина наблюдалась в отношении CD25<sup>+</sup>-клеток, несущих рецептор IL-2. В группе больных при иммунопрофилактике этот показатель был стабильно выше нормы, тогда как в контрольной группе изначально завышенный уровень падал на 38%, что говорит о снижении количества активированных клеток (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

Уровень маркера NK-клеток (CD16-антигена) был изначально повышен в обеих группах, однако на 3-и сутки после ХЭ при иммунопрофилактике было зарегистрировано увеличение числа NK-клеток (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ), а в контрольной группе отмечалось снижение (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). На 7-е сутки содержание NK-клеток выравнивалось.

Уровень клеток, экспрессирующих CD95-антиген, был снижен в обеих группах больных с прогрессирующим снижением на 3-и сутки на 28% у больных, не получавших деринат (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). У больных, которым вводили деринат, такого понижения не выявлено.

Таким образом, деринат не влиял на динамику изменения уровня CD22<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup> и CD50<sup>+</sup>-клеток. В отношении CD8<sup>+</sup>, NK-клеток и HLA-DR<sup>+</sup>-клеток (маркер неспецифического (макрофаги) иммунитета) отмечается тенденция к повышению. Деринат стабилизировал уровень CD25<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>-клеток и сдерживал падение экспрессии молекул HLA-I класса.

При изучении уровня растворимых CD38, CD50, CD95 и антигенов HLA-I (табл. 3 и 4) уровень sCD38-антигена изначально был снижен втрое (по сравне-

нию с нормой) и оставался неизменным в обеих группах на протяжении всего времени наблюдения (Mann—Whitney,  $p < 0,05$ ).

Пониженный уровень растворимого CD38-антигена соответствовал повышению относительного количества CD38<sup>+</sup> мононуклеарных клеток (Spearmen,  $r = 0,5$ ,  $p = 0,03$ ). Известно, что растворимая форма CD38-антигена образуется за счет схода с поверхности клетки его мембранной формы путем протеолитического отщепления. Активация, как правило, выражающаяся в повышении относительного количества антиген-положительных клеток, сопровождается повышенным шеддингом мембранных антигенов [4]. У больных ЖКБ обнаружено обратное явление — снижение уровня растворимой формы белка при повышении его экспрессии на мембранах клеток.

Особенно четкая корреляция выявлена между относительным количеством клеток, положительных по антигенам HLA-I в реакции иммунофлюоресценции и уровнем растворимых молекул HLA-I в контрольной группе: снижение уровня HLA<sup>+</sup>-клеток приводит (Spearmen,  $r = 0,6$ ,  $p = 0,01$ ) к падению sHLA I класса (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) в сыворотке крови. Подобный характер изменения сывороточных sHLA I класса подтверждает стабилизирующее действие дерината на экспрессию молекул HLA I класса, выявленное при изучении их мембранной формы.

В контрольной группе изначально завышенный уровень sCD95 (ингибирующего апоптоз) падал к 3-м суткам на 48% (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). У больных, получавших деринат, уровень sCD95-антигена не только остается в пределах нормы, но и имеет тенденцию к повышению на 3-и сутки после холецистэктомии.

Поддерживаемый деринатом постоянный уровень sCD95-антигена свидетельствует о сохранении активационных процессов на исходном уровне.

При клинической оценке результатов ближайшего послеоперационного периода оказалось, что у пациентов при трехкратной иммунопрофилактике деринатом инфекционно-септических осложнений не выявлено. В контрольной группе число подобных осложнений составило 12% (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ): у 2

пациентов отмечена пневмония, у 1 пациента — тромбоз глубоких вен нижней конечности.

Таким образом, иммунопрофилактика должна стать обязательным компонентом системы профилактики гнойно-септических осложнений при оперативном лечении ЖКБ. Целесообразность применения в качестве иммуномодулятора препарата деринат показана в нашем исследовании при изучении иммунного статуса с помощью современных методик.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Громов М.И.* Реаниматологические проблемы хирургического сепсиса: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ст.-Петербург 1998; 34.
2. *Карсонова М.И., Пинегин Б.В., Хаитов Р.М.* Иммунокорригирующая терапия при хирургической инфекции. *Анналы хир гепатол* 1999; 4: 1: 88—96.
3. *Кузин Н.М., Дадавани С.С., Ветшев П.С. и др.* Лапароскопическая и традиционная холецистэктомия: сравнение непосредственных результатов. *Хирургия* 2000; 2: 25—27.
4. *Новиков В.В.* Определение популяций лимфоцитов. Характеристика и биотехнология моноклональных антител: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М 1995; 260.
5. *Серебряная Н.Б., Новик А.А.* ДНК как иммуностимулятор (обзор литературы). *Мед иммунол* 2001; 3: 1: 27—34.

Поступила 20.02.07