

# ЭНДОТОКСИНЕМИЯ И НАПРЯЖЕННОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВНЕПЕЧЕНОЧНЫХ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

*Д.Е. Волков, Н.А. Сафина, В.Ю. Терещенко, О.Д. Зинкевич*

*Кафедра общей хирургии (зав. — доц. В.Ю. Терещенко) Казанского государственного медицинского университета, Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии (директор — В.М. Лукашков)*

Определяющая роль во взаимодействии грамотрицательной микрофлоры кишечника и макроорганизма принадлежит эндотоксину (липополисахариду грамотрицательной микрофлоры кишечника) и иммунной системе. С одной стороны, эндотоксин является естественным иммуномодулятором и поддерживает в напряженном состоянии систему гуморально-клеточного иммунитета, а с другой — сама иммунная система препятствует избыточному поступлению эндотоксина в системный кровоток, предотвращая его возможные патологические эффекты [6]. Однако до сих пор остается неизвестной взаимосвязь между уровнем системной эндотоксинемии, напряженностью антиэндотоксинового иммунитета и билирубинемией у больных с острыми заболеваниями внепеченочных желчевыводящих путей, сопровождающихся нарушением пассажа желчи в кишечник.

Целью настоящего исследования являлось установление возможной корреляции между системной эндотоксинемией, напряженностью антиэндотоксинового иммунитета, с одной стороны, и билирубинемией — с другой.

В отделении неотложной хирургии с января по июнь 2000 г. были госпитализированы и прооперированы 40 больных с острым холециститом и его осложнениями. Средний возраст больных составил 65 лет; среди них было 28 (70%) женщин и 12 (30%) мужчин. У 16 (40%) больных диагностирован острый флегмонозный холецистит, осложненный холедохолитиазом, стенозом БДС, механической желтухой, гнойным холангитом, у 24 (60%) — различные формы острого холецистита. Всем больным была

произведена холецистэктомия, у 16 (40%) — по показаниям холедохолитотомия, дренирование холедоха по Вишневскому. В послеоперационном периоде больные получали антибиотики, ингибиторы протеаз и по показаниям гепатопротекторы.

Взятие крови производили из кубитальной вены с соблюдением асептики. Кровь пациентов брали перед операцией, на 3 и 7-е сутки. В работе были использованы рутинные клинические и лабораторные анализы. Концентрацию эндотоксина в периферической крови определяли в ЛАЛ-тесте методом коагуляции согласно инструкции фирмы производителя (SIGMA, USA). Для освобождения эндотоксина из комплекса с ЛПС-связывающими белками, образцы плазмы предварительно разводили в 10 раз дистиллированной водой и инкубировали в кипящей водяной бане в течение 30 минут. Концентрацию антител к эндотоксину и бактериальным антигенам кишечной микрофлоры устанавливали методом ИФА. В качестве антигена эндотоксина использовали гликолипид (ГЛП) S. Minnesota RE-595 и липополисахарид (ЛПС) E. coli 0,14, в состав которого входит общий энтеробактериальный антиген (ОАЭ). Антигены бактерий P. aeruginosa, P. mirabilis, C. pneumoniae, C. albicans, S. aureus, S. pyogenes, B. fragilis, Bifidobacterium получали методом ультразвуковой дезинтеграции с последующим ультрацентрифугированием и гельфильтрацией [2]

По уровню системной эндотоксинемии и напряженности антиэндотоксинового иммунитета больные были разделены на две группы. У пациентов 1-й группы, имевших на момент операции высокий уровень эндотоксина в периферической крови, подтвердился диагноз острого холецистита (ОХ), осложненного механической желтухой (ОХмж), а низкий уровень эндотоксина (2-я группа) был характерен для других форм ОХ — соответственно  $37,1 \pm 1,8$  и  $2,4 \pm 0,4$  ЕД/мл ( $P < 0,001$ ).

На 3-й день после оперативного вмешательства концентрация эндотоксина при ОХ, ОХмж снизилась до  $13,8 \pm 0,8$  ЕД/мл ( $P < 0,001$ ) по сравнению с таковой в до-операционном периоде. При ОХ уровень системной эндотоксинемии на 3-й день после операции практически не изменился ( $3,1 \pm 0,5$  ЕД/мл).

К моменту ликвидации симптомов послеоперационной болезни, что наблюдалось, как правило, на 7-й день после операции, уровень эндотоксина при ОХмж и при ОХ уменьшался, хотя и в разных пропорциях и так же, как и в предыдущие дни, различался между собой (соответственно  $6,9 \pm 0,7$  ЕД/мл и  $1,4 \pm 0,3$  ЕД/мл;  $P < 0,001$ ). В то же время параллельно изменениям уровня системной эндотоксинемии происходили сдвиги в состоянии антиэндотоксинового иммунитета, что проявлялось колебаниями концентрации антител к ГЛП и к ЛПС E. coli в обеих группах больных.

Если концентрация антител к ГЛП при ОХмж и ОХ на момент операции была статистически неразличимой (соответственно  $2,8 \pm 0,2$  и  $3,1 \pm 0,4$  мкг/мл), то к ЛПС E. coli — достоверно меньше, чем при ОХ, и составляла  $15,2 \pm 2,7$  мкг/мл и  $25,3 \pm 4,1$  мкг/мл соответственно ( $P < 0,05$ ). Далее на 7-е сутки после операции при ОХмж отмечено повышение в 3 раза концентрации антител к ЛПС E. coli ( $43,1 \pm 7,2$  мкг/мл;  $P < 0,001$ ), а при ОХ — понижение в 3 раза ( $7,5 \pm 0,7$  мкг/мл;  $P < 0,001$ ). Напряженность гуморального иммунитета к ГЛП на 3-й день после операции при ОХмж и ОХ уменьшилась соответственно до  $2,1 \pm 0,2$  ( $P < 0,05$ ) и  $1,1 \pm 0,4$  ( $P < 0,05$ ). На 7-й день после операции концентрация антител к ГЛП у больных ОХ практически не отличалась от таковых на 3-й день ( $10,4$  мкг/мл), а при ОХмж возросла до  $3,5 \pm 0,1$  мкг/мл ( $P < 0,001$ ).

Значения общего билирубина крови значительно различались при этих вариантах заболевания как по абсолютному количеству, так и по характеру изменений в течение послеоперационного периода. Так, перед операцией уровень билирубина при ОХмж составлял  $212,0 \pm 9,3$ , на 3-и сутки —  $92,8 \pm 5,7$ , на 7-е сутки —

42,7±5,4, при ОХ — соответственно 20,1±1,8, 24,2±2,3, 16,9±0,8.

В целом выявлена следующая закономерность: уровень общего билирубина прямо коррелирует с выраженностью системной эндотоксинемии как при ОХмж, так и при ОХ. Так, перед операцией коэффициент корреляции составлял при ОХмж 0,8 ( $P<0,001$ ), на 3-и сутки — 0,8 ( $P<0,05$ ), на 7-е сутки — 0,6 ( $P<0,05$ ), при ОХ — соответственно 0,6 ( $P<0,05$ ), 0,8 ( $P<0,05$ ), 0,6 ( $P<0,05$ ).

В состоянии антиэндотоксинового иммунитета у больных с нарушением пассажа желчи в кишечник отмечены существенные изменения: значительное снижение концентрации антител, нейтрализующих эндотоксин, в дооперационном периоде и в течение первых 3 суток после операции, причем приоритет в данном случае мы отдаем антителам к ЛПС *E.Coli*. Это может свидетельствовать о развитии дисбактериоза у больных с ОХмж в дооперационном периоде, а также о наличии нарушений проницаемости кишечной стенки, что проявлялось увеличением поступления эндотоксина грамотрицательных бактерий в порталный, а затем в системный кровоток и приводило, в свою очередь, к подавлению антиэндотоксинового иммунитета. Увеличение концентрации антител к ЛПС *E. Coli* и ГЛП на 7-е сутки после операции у больных ОХмж, по нашему мнению, связано с восстановлением оттока желчи, частичным восстановлением микробиоценоза кишечника, уменьшением проницаемости кишечной стенки для ЛПС грамотрицательной микрофлоры и вследствие этого уменьшением системной эндотоксинемии. Противоположные изменения у больных ОХ, на наш взгляд, связаны с массивной, без определения чувствительности, антибиотикотерапией в послеоперационном периоде, изменением микробиоценоза тонкого кишечника в сторону увеличения эшерихиозной микрофлоры при неизменной проницаемости кишечной стенки, что соответствует ранее полученным результатам [4]. Общим для обеих групп является более низкий по сравнению с нормой уровень анти-ГЛП антител.

При механической желтухе наиболее высокой была концентрация антител к *Candida*, которая от момента операции и до 7-го дня возросла от 71,4±6,1 мкг/мл до 103±11,8 мкг/мл ( $P<0,05$ ), хотя и имела некоторую тенденцию к снижению на 3-и сутки после оперативного вмешательства. Полученные показатели оказались гораздо выше ( $P<0,001$ ), чем у здоровых людей, что может свидетельствовать или об участии дрожжей этого рода в развитии патологического процесса, или (что наиболее вероятно) об изменении микробиоценоза кишечника вследствие уменьшения поступления желчи и массивной антибиотикотерапии как в до-, так и в послеоперационном периоде. На этом фоне отмечалось повышение концентрации антител к антигенам анаэробной микрофлоры кишечника группы *Bacteroides* с 1,5±0,2 до 12,9±5,5 мкг/мл ( $P<0,001$ ) на 7-е сутки, что вдвое превышало этот показатель у здоровых людей.

Снижение напряженности иммунитета к антигенам условно патогенной микрофлоры было характерно для больных обеих групп в сравнении с нормальными показателями, однако в отличие от ОХмж при ОХ напряженность иммунитета к антигенам условно-патогенной микрофлоры в целом находилась на более низком уровне.

Концентрация антител к антигенам *Klebsiella* при ОХмж перед операцией составляла 36,5±5,4 мкг/мл и имела тенденцию к снижению на 7-е сутки (20,9±2,3 мкг/мл;  $P<0,05$ ), а при ОХ на 3-и сутки после операции повысилась (с 15,6±2,3 до 40,2±5,2 мкг/мл;  $P<0,001$ ) а на 7-е сутки снизилась (13,1±1,6;  $P<0,001$ ). Этот показатель у практически здоровых людей, по нашим данным, составляет 25,3±2,3 мкг/мл.

Увеличение концентрации антител к антигенам *Candida* при ОХ имело схожую динамику с ОХмж, достигая максимального значения к 7-му дню после операции (40,4±3,2 мкг/мл), что более чем в 1,5 раза превышало нормальные показатели. Концентрация антител к антигенам анаэробной микрофлоры кишечника группы *Bacteroides* при ОХ не изменилась и, оставаясь достоверно низкой, отличалась от аналогичного показателя при ОХмж на 7-е сутки (см. табл.).

Напряженность иммунитета к представителям нормальной микрофлоры (*Bifidobacterium*) в процессе лечения не менялась и была ниже, чем у практически здоровых людей. Отсутствие существенных изменений к другим антигенам микрофлоры свидетельствует, вероятно, об их незначительном участии в развитии данных заболеваний или их осложнений.

## ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень эндотоксинемии наблюдается у пациентов с ОХмж как в до-, так и в послеоперационном периоде, причем уровень общего билирубина крови прямо коррелирует с выраженностью системной эндотоксинемии.
2. У больных с нарушением поступления желчи в кишечник имела место низкая концентрация антиэндотоксिनотических антител в дооперационном периоде, которая после операции по мере восстановления оттока желчи и снижения уровня системной эндотоксинемии постоянно увеличивалась. Противоположные изменения определялись у больных без нарушения пассажа желчи в кишечник.

**Динамика концентрации антител к эндотоксину и антигенам кишечной микрофлоры перед операцией и после нее**

| Антигены               | ОХ мж (n= 16)       |                 |                 | ОХ (n = 24)         |                 |                 | Норма<br>(11=400) |
|------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|---------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
|                        | перед операцие<br>й | на 3-и<br>сутки | на 7-е<br>сутки | перед операцие<br>й | на 3-и<br>сутки | на 7-е<br>сутки |                   |
| ГЛП                    | 2,8±0,2             | 2,1±0,2         | 3,5±0,1         | 3,1±0,4             | 1,1 ±0,4        | 1,0±0,4         | 4,4±0,1           |
| E. coli                | 15,2±2,7            | 13,4±2,         | 43,1±7,2        | 25,3±4,1            | 9,7±1,6         | 7,5±0,7         | 23,7±1,           |
| Candida                | 71,4±6,1            | 65,8±8,         | 103,0±1 1,8     | 28,5±4,             | 29,3±2,3        | 40,4±3,2        | 25,1              |
| Pseudomonas            | 4,7±3,3             | 5,8±4,1         | 3,3±1,5         | 3,9±1,5             | 3,2±1,9         | 2,3±0,5         | 14,5±1,           |
| Proteus                | 24,1±13,7           | 19,9±5,         | 32,3±16,4       | 14,6±6,4            | 19,0±7,8        | 43,3±34,2       | 11,8±1,           |
| Staph. aureus          | 4,0±0,6             | 3,8±0,2         | 4,6±0,8         | 2,5±0,4             | 2,6±0,5         | 2,8±0,7         | 6,7±1,1           |
| Streptococcus          | 32,5±15,3           | 47,1±27,3       | 30,1±14,9       | 10,9±4,2            | 18,1±9,1        | 13,8±6,         | 13,8±1,           |
| Bacteroides            | 1,5±0,2             | 1,4±0,3         | 12,9±5,5        | 1,2±0,3             | 1,0±0,2         | 1,3±0,2         | 6,4±0,3           |
| <u>Bifidobacterium</u> | 1,8±0,1             | 1,8±0,3         | 1,8±0,3         | 1,5±0,2             | 2,0±0,3         | 1,8±0,2         | 4,3±0,1           |

*Примечание.* В таблице даны средние величины ± стандартные ошибки (мкг/мл). В скобках указано число обследованных больных

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гальперин Э.И., Ахаладзе Г.Г.// Хирургия- 1999. - №10. С.24-28.
2. Зинкевич О.Д. и соавт. //ЖМЭИ. — 1999. — №2.- С.65-68.
3. Лиходед В. Г., Юцук Н.Д., Яковлев М. Ю.// Арх. патол. - 1996.- №2.- С. 8—12.
4. Лиходед В.Г. и соавт. //ЖМЭИ. — 1998. - № 3. — С. 14-16.
5. Пермяков Н.К., Яковлев М.Ю.// Арх.патол.-1989 - № 12. - С. 74-78.
6. Румянцев А.Г., Касаткин В.Н., Канаева Е.С.// ЖМЭИ, - 1994,-№4.-С. 110-114.
7. Robert S. Warren et. all.// Surgery. —1986.— Vol. 100.- P. 349-355.

Поступила 25.01.00.

#### ENDOTOXINEMIA AND INTENSITY OF HUMORAL IMMUNITY IN SURGICAL TREATMENT OF ACUTE DISEASES OF EXTRAHEPATIC BILIFEROUS TRACTS

*D.E. Volkov, N.A. Safina, V. Yu. Tereshchenko,  
O.D. Zinkevich*

#### Summary

The level of systemic endotoxemia and intensity of antiendotoxine humoral immunity in surgical treatment of acute diseases of extrahepatic biliary tracts are studied. Two groups of patients were examined. The patients with acute cholecystitis complicated by mechanical jaundice were in the first group, the patients with various forms of acute cholecystitis without disorders of bile outflow were in the second group. It is established that the high level of systemic endotoxemia is found in patients with signs of mechanical jaundice in preoperative period, in this case the level of general blood bilirubine is directly correlated with the level of systemic endotoxemia in both groups of patients. The decrease of humoral antiendotoxine immunity in preoperative period and its recovery in postoperative period are noted in patients with mechanical jaundice phenomena as the level of systemic endotoxemia decreases and bile passage into intestine is recovered.