

УДК 616.728-001-089.168.1-089.5

С.П. Крыжановский¹, Т.С. Запорожец²

¹ Медицинское объединение Дальневосточного отделения РАН (690022 г. Владивосток, ул. Кирова, 95),

² НИИ эпидемиологии и микробиологии Сибирского отделения РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1)

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ И ИММУННАЯ ДИСФУНКЦИЯ В РАННЕМ ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ПАЦИЕНТОВ С ТРАВМОЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Ключевые слова: послеоперационная боль, эндотелий, молекулы адгезии и активационные антигены, лимфоциты.

Исследованы роль и адекватность анальгезии в развитии эндотелиальной и иммунной дисфункции в периоперационном периоде у 20 пациентов 40–60 лет с тяжелой травмой нижних конечностей. Установлено, что к моменту выполнения хирургической операции на фоне дисфункции эндотелия и иммунной системы активационного типа наблюдались расстройства клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета депрессивной направленности. Отсутствие значимых различий показателей, характеризующих состояние иммунной системы и эндотелия в динамике раннего периоперационного периода, свидетельствовало об адекватности обезболивания. Используемый метод анестезии, включающий комбинированное применение анальгетика периферического действия (кетопрофен) в сочетании с опиоидами (промедол), обеспечивал поддержание послеоперационного гомеостаза и позволял сохранить баланс про- и противовоспалительных потенциалов иммунокомпетентных клеток, предотвращая развернутый стресс-ответ на хирургическое вмешательство.

Несмотря на разработку и совершенствование средств медикаментозной и немедикаментозной анальгезии проблема послеоперационной боли продолжает занимать важное место в современной медицине и является предметом широкомасштабного мультидисциплинарного исследования. Послеоперационная боль служит мощнейшим фактором, индуцирующим развитие хирургического стресс-ответа, который представляет собой совокупность эндокринных, метаболических и воспалительных процессов, развивающихся в ответ на хирургическую травму и боль и ведущих к нарушениям деятельности жизненно важных функциональных систем [1, 3, 6]. Центральная роль в процессе развития и поддержания этих реакций отводится эндотелиальной и иммунной дисфункции. К настоящему времени разработана концепция сбалансированной анальгезии, основанная на сочетанном применении препаратов, действующих на разные участки передачи боли и позволяющая снизить ее интенсивность в раннем периоперационном периоде [1, 2]. Методика сбалансированной анальгезии показана при обширных хирургических вмешательствах [3, 5].

Целью настоящей работы было исследование роли и адекватности анальгезии в развитии эндотелиальной и иммунной дисфункции в периоперационном периоде у пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей.

Материал и методы. В исследование были включены 20 пациентов от 40 до 60 лет, которые подвер-

гались хирургическому вмешательству по поводу тяжелой травмы нижних конечностей. Тяжесть травмы по RTS (Revised Trauma Score) у всех пациентов составила $6,75 \pm 0,4$ балла. В структуре повреждений преобладала травма бедра (17 случаев). Всем пациентам проводили комбинированную эндотрахеальную общую анестезию, по окончании операции назначали опиоиды и нестероидные противовоспалительные препараты (промедол 60 мг/сутки, кетопрофен 300 мг/сутки). Периферическую венозную кровь забирали в гепаринизированные стерильные пробирки до операции (1-я группа), после операции (2-я группа) и через 40 минут после обезболивания (3-я группа), центрифугировали при 3000 об./мин. Плазму декантировали в полипропиленовые пробирки и хранили при -80°C . Группа контроля (4-я) состояла из 20 здоровых доноров в возрасте 40–60 лет.

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови и исследование концентрации растворимых молекул адгезии проводили методом проточной цитометрии (цитофлуориметр FACScan, Becton Dickinson) с использованием моноклональных антител к кластерам дифференцировки (Cluster of Differentiation – CD) с двойной меткой: CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD56+16-PE, CD3-FITC/CD19-PE (Becton Dickinson, США), CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/CD95-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE (Bekman Coulter, Франция), а также моноклональных антител к молекулам адгезии: sICAM-1, sICAM-3, sVCAM-1, sPECAM-1, sE-selectin, sP-selectin (Bender Medsystems).

Статистический анализ полученных результатов проводился на основе прикладного пакета Statistica 6. Использовались следующие методы: проверка нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием Shapiro–Wilk, основанная на регрессии порядковых статистик. Межгрупповые различия показателей проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для сравнения уровня молекул адгезии в сыворотках крови больных и здоровых доноров использовали непараметрический критерий Mann–Whitney и t-критерий Стьюдента (для двух не связанных между собой вариационных рядов), двусторонние доверительные интервалы. Наличие связей между показателями определяли, используя коэффициент корреляции Пирсона (r).

Результаты исследования. При оценке параметров нормирования значений уровня раство-

Крыжановский Сергей Петрович – канд. мед. наук, главный врач Медицинского объединения ДВО РАН; тел.: 8 (4232) 31-09-10; e-mail: priemmodvoran@mail.ru.

римых молекул адгезии, а также показателей иммунного статуса было обнаружено, что показатели, характеризующие концентрацию sE-selectin, sICAM-3, sPECAM-1 и sVCAM-1, а также содержание CD3⁺CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов и HLA-DR⁺-лимфоцитов, имели гауссово распределение. Для sP-selectin, sICAM-1 наблюдалось отклонение от нормального распределения.

Установлено, что концентрация молекул межклеточной адгезии в сыворотке крови пациентов, измеренная перед операцией, значимо превышала норму, отражая процессы активации эндотелия в ответ на травматические повреждения нижних конечностей. Динамика показателей в послеоперационном периоде не имела значимых различий в содержании молекул адгезии сразу после операции и через 40 мин

после обезболивания: уровень sE-selectin, sICAM-3, sPECAM-1 и sVCAM-1, sP-selectin и sICAM-1 оставался повышенным по сравнению с таковым у здоровых (табл. 1).

При анализе иммунологических показателей было установлено снижение относительного содержания лимфоцитов с CD3⁺CD19⁻ и с CD4⁺ и увеличение относительного содержания NK-клеток (CD3⁻CD16⁺CD56⁺). В послеоперационном периоде изменения клеточного иммунитета сохранялись, показатели значимо отличались от таковых у здоровых доноров. В эти же сроки регистрировалось увеличение HLA-DR⁺-лимфоцитов (табл. 2). В то же время однофакторный дисперсионный анализ не выявил межгрупповых различий показателей в динамике обследования.

Таблица 1

Концентрация растворимых молекул адгезии в сыворотках крови пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей в раннем периоперационном периоде

Молекулы адгезии, нг/мл	Группа	W ¹	M±σ	Me ²	LQ–UQ ³	T-test		U ⁴	ANOVA	
						группы сравнения	p		p	F
sPECAM-1	1	0,8849 ⁵	223,9±155,9	–	–	1–4	0,0322	–	0,022	0,978
	2	0,9071 ⁵	213,6±105,1	–	–	2–4	0,0071	–		
	3	0,9722 ⁵	216,0±102,2	–	–	3–4	0,0052	–		
	4	0,9422 ⁵	118,8±35,3	–	–	–	–	–	–	–
sICAM-3	1	0,9769 ⁵	196,6±91,7	–	–	1–4	0,0000	–	0,468	0,630
	2	0,9161 ⁵	204,2±70,7	–	–	2–4	0,0000	–		
	3	0,8948 ⁵	199,9±60,4	–	–	3–4	0,0000	–		
	4	0,8929 ⁵	66,6±6,6	–	–	–	–	–	–	–
sE-selectin	1	0,9727 ⁵	150,2±80,0	–	–	1–4	0,0000	–	0,029	0,972
	2	0,9584 ⁵	150,5±80,4	–	–	2–4	0,0000	–		
	3	0,9389 ⁵	158,3±90,7	–	–	3–4	0,0000	–		
	4	0,8834 ⁵	32,6±8,2	–	–	–	–	–	–	–
sICAM-1	1	0,8083	–	514	471–529	1–4	–	0,0000	0,836	0,446
	2	0,8687	–	576	467–737	2–4	–	0,0000		
	3	0,8186	–	560	449–700	3–4	–	0,0000		
	4	0,8316	–	248	206–275	–	–	–	–	–
sP-selectin	1	0,8383	–	506	193–648	1–4	–	0,0000	0,025	0,975
	2	0,8240	–	402	233–565	2–4	–	0,0000		
	3	0,8765	–	471	242–605	3–4	–	0,0000		
	4	0,8681	–	137	120–168	–	–	–	–	–
VCAM-1	1	0,9477 ⁵	1010,8±461,2	–	–	–	0,0004	–	1,276	0,291
	2	0,9177 ⁵	1129,2±299,4	–	–	–	0,0000	–		
	3	0,9684 ⁵	1274,4±480,1	–	–	–	0,0000	–		
	4	0,9073 ⁵	483,6±196,6	–	–	–	–	–	–	–

¹ Критерий Shapiro–Wilk.

² Медиана.

³ Интерквартильный размах (25–75%).

⁴ Критерий Mann–Whitney.

⁵ p>0,05 – уровень значимости, соответствующий данному критерию W (при p<0,05 параметр имеет отклонение от нормального распределения).

Таблица 2

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей в раннем периоперационном периоде

Субпопуляция лимфоцитов	Группа	W ¹	Кол-во лимфоцитов, М±σ		Т-test		ANOVA	
			%	абс. в мкл	группы сравнения	р	F	р
CD3 ⁺ CD19 ⁻	1	0,8887	70,4±4,2	1295±225	1–4	0,0130	1,043	0,364
	2	0,9226	69,6±5,5	899±157	2–4	0,0066		
	3	0,8971	67,4±5,9	891±146	3–4	0,0061		
	4	0,9422	73,3±5,4	1480±113	–	–	–	–
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1	0,8816	41,8±6,2	769±116	1–4	0,0097	0,094	0,911
	2	0,8975	42,8±6,0	556±78	2–4	0,0040		
	3	0,9295	43,3±8,4	573±112	3–4	0,0023		
	4	0,9596	46,1±4,1	931±84	–	–	–	–
CD3 ⁺ CD8 ⁺	1	0,9683	23,6±5,2	434±96	1–4	0,4274	0,390	0,680
	2	0,9535	21,9±5,5	284±71	2–4	0,1007		
	3	0,9754	22,4±5,3	296±70	3–4	0,1473		
	4	0,9544	25,1±5,6	507±112	–	–	–	–
CD3 ⁻ CD19 ⁺	1	0,8799	11,9±3,4	219±63	1–4	0,4890	2,576	0,089
	2	0,9179	11,1±3,4	144±44	2–4	0,1827		
	3	0,8826	13,7±4,5	181±61	3–4	0,450		
	4	0,9622	12,6±3,3	255±67	–	–	–	–
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	1	0,9095	17,1±5,7	326±108	1–4	0,0018	0,076	0,927
	2	0,9365	16,2±7,4	210±95	2–4	0,0135		
	3	0,9021	16,0±6,9	211±81	3–4	0,0134		
	4	0,9637	10,4±4,9	204±74	–	–	–	–
CD25 ⁺	1	0,9036	16,9±4,7	310±91	1–4	0,0000	0,348	0,708
	2	0,9246	18,4±5,0	239±66	2–4	0,0000		
	3	0,9513	18,4±5,6	243±76	3–4	0,0000		
	4	0,9580	10,6±2,4	214±49	–	–	–	–
CD3 ⁺ CD25 ⁺	1	0,8888	12,3±4,2	226±78	1–4	0,0000	0,278	0,759
	2	0,8862	12,8±4,2	166±55	2–4	0,0000		
	3	0,9451	13,7±5,8	181±65	3–4	0,0000		
	4	0,8948	6,9±1,9	139±38	–	–	–	–
CD95 ⁺	1	0,9561	35,8±11,6	659±212	1–4	0,0000	1,344	0,277
	2	0,9937	41,7±6,3	541±81	2–4	0,0000		
	3	0,9737	40,6±9,5	537±124	3–4	0,0000		
	4	0,9441	21,2±7,8	428±158	–	–	–	–
HLA-DR ⁺	1	0,9144	18,1±3,9	333±71	1–4	0,0572	1,548	0,255
	2	0,8873	18,7±4,9	243±464	2–4	0,0269		
	3	0,9385	21,2±5,8	280±76	3–4	0,0001		
	4	0,9619	16,0±3,5	323±70	–	–	–	–
ИРИ ²	1	0,9624	1,8±0,6	–	1–4	0,3920	0,648	0,549
	2	0,8902	2,0±0,9	–	2–4	0,8910		
	3	0,9284	2,2±0,9	–	3–4	0,5304		
	4	0,9168	1,9±0,5	–	–	–	–	–
Лейкоциты, кл./мкл	1	0,8856	7133±1173	–	1–4	0,0179	0,025	0,975
	2	0,8910	7214±1016	–	2–4	0,0043		
	3	0,9306	7116±1189	–	3–4	0,0203		
	4	0,9580	6169±1157	–	–	–	–	–
Лимфоциты, %	1	0,9055	25,8±9,2	–	1–4	0,0071	2,560	0,094
	2	0,9461	18,0±8,4	–	2–4	0,0000		
	3	0,9747	18,6±8,7	–	3–4	0,0000		
	4	0,9769	32,6±5,6	–	–	–	–	–

¹ Критерий Shapiro–Wilk. Для всех значений критерия W – p>0,05 (параметры имеют нормальное распределение).

² Иммунорегуляторный индекс: CD4⁺/CD8⁺.

Таблица 3

Показатели врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей в раннем периоперационном периоде

Показатель	Группа	W ¹	M±σ	T-test		ANOVA		
				группы сравнения	p	F	p	
Фагоцитарный показатель, %	1	0,9607	74,1±9,0	1–4	0,0002	1,902	0,163	
	2	0,8868	66,1±11,3	2–4	0,0000			
	3	0,8889	64,5±11,8	3–4	0,0000			
	4	0,9497	81,2±5,2	–	–			
Фагоцитарное число	1	0,9471	2,9±0,9	1–4	0,0000	0,777	0,467	
	2	0,9204	2,6±1,2	2–4	0,0000			
	3	0,9238	2,5±1,1	3–4	0,0000			
	4	0,8992	4,5±0,5	–	–			
Иммуноглобулины, г/л	G	1	0,9337	8,4±3,5	1–4	0,0055	0,136	0,873
		2	0,9540	8,7±2,9	2–4	0,0092		
		3	0,9540	9,2±3,8	3–4	0,0500		
		4	0,9572	10,9±1,9	–	–		
	M	1	0,8890	0,9±0,2	1–4	0,0010	0,040	0,961
		2	0,8988	0,9±0,2	2–4	0,0010		
		3	0,8917	0,9±0,3	3–4	0,0026		
		4	0,9219	1,5±0,4	–	–		
	A	1	0,8856	1,0±0,5	1–4	0,0006	0,221	0,803
		2	0,8910	1,0±0,5	2–4	0,0006		
		3	0,9306	1,1±0,5	3–3	0,0022		
		4	0,9580	2,0±0,7	–	–		

¹ Критерий Шарпо–Вилк. Для всех значений критерия W – p>0,05 (параметры имеют нормальное распределение).

Увеличение содержания НК-клеток могло быть обусловлено стимулирующим действием фактора некроза опухоли-α и интерлейкина-12, продукция которых увеличивается при развитии воспалительной реакции в ответ на повреждение тканей при травме. Вместе с тем активность НК-клеток как иницирующего фактора неспецифической защиты в экстремальных условиях периоперационного периода оказывается недостаточной: при анализе состояния врожденного иммунитета было выявлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов. Концентрация иммуноглобулинов G, A и M также была снижена (табл. 3).

Перед операцией наблюдалось усиление экспрессии рецептора к интерлейкину-2 (CD25) и проапоптотического антигена CD95/Fas на лимфоцитах, и в том числе на Т-лимфоцитах (табл. 2).

Корреляционный анализ выявил тесную отрицательную связь между выраженностью экспрессии CD95/Fas-антигена на лимфоцитах и абсолютным количеством лимфоцитов (рис.).

Обсуждение полученных данных. Воспаление является универсальным механизмом, обеспечивающим репарацию и санацию тканей в очаге травматического повреждения. В то же время избыточный воспалительный ответ может привести к вторичному повреждению тканей, опосредованному выделением цитокинов, молекул адгезии и других медиаторов. Операционный

стресс, сопровождающийся дополнительным обширным повреждением тканей и генерацией большого количества входящих ноцицептивных импульсов, усугубляет нарушения иммунной и эндотелиальной систем, вызванные травмой. Важнейшим фактором, индуцирующим развитие хирургического стресс-ответа, является послеоперационная боль. В этой связи одним из условий послеоперационной реабилитации становится адекватная послеоперационная анальгезия [4, 7].

Выполненные нами исследования показали, что у пациентов с тяжелой травмой нижних конечностей к моменту выполнения хирургической операции на фоне дисфункции эндотелия и иммунной системы активационного типа наблюдаются расстройства клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета депрессивной направленности. В сыворотке крови перед операцией регистрировались повышенные уровни растворимых молекул адгезии. При этом изменения касались как селективов, принимающих участие в каскаде адгезии на этапе атаки и активации, так и молекул межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1), 3-го типа (ICAM-3) и молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (VCAM-1), реализующих свой потенциал на этапе прикрепления и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов. Дисфункция иммунной системы подтверждалась усилением экспрессии активационных

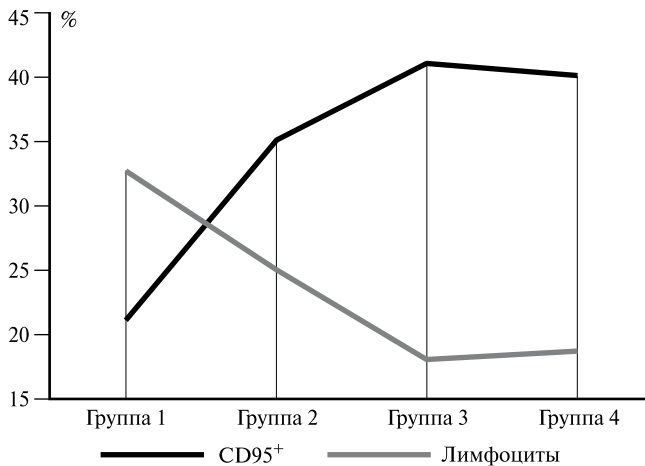
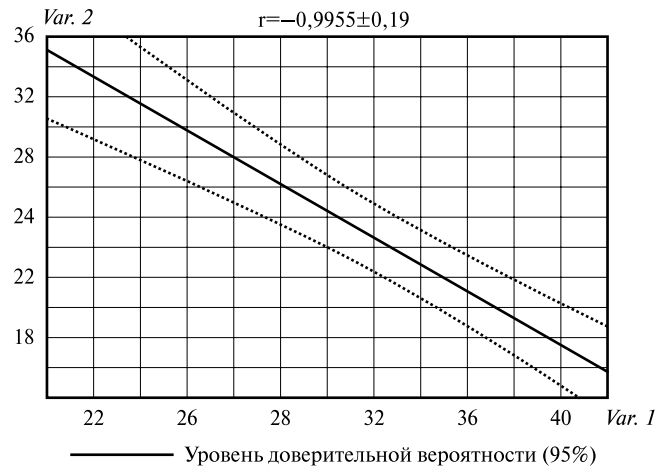


Рис. Корреляционная связь между экспрессией CD95/Fas на мембранах лимфоцитов и количеством лимфоцитов в периферической крови больных с тяжелой травмой нижних конечностей.



антигенов (CD25, CD95/Fas) на лимфоцитах, сопряженной со снижением относительного содержания CD3⁺- и CD4⁺-клеток. Поскольку наличие на клеточной поверхности рецепторов CD95(Fas/APO-1) определяет готовность клетки к Fas-индуцированному апоптозу при контакте с Fas-лигандом, отрицательная корреляционная связь между выраженностью экспрессии CD95/Fas-антигена на лимфоцитах и их абсолютным количеством свидетельствует в пользу участия системы CD95/Fas/Fas-лиганд в усилении активационного апоптоза лимфоцитов больных с тяжелой травмой нижних конечностей в периоперационном периоде.

Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови отражало состояние недостаточности клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета, регистрировавшееся перед операцией. Отсутствие значимых различий показателей, характеризующих состояние иммунной системы и эндотелия в динамике раннего периоперационного периода, свидетельствует об адекватности обезболивания. Использованный метод анестезии, включающий комбинированное применение анальгетика периферического действия (кетопрофен) в сочетании с опиоидами (промедол), обеспечивал поддержание послеоперационного гомеостаза и позволял сохранить баланс про- и противовоспалительных потенций иммунокомпетентных клеток, предотвращая развернутый стресс-ответ на хирургическое вмешательство. В то же время снижение клеточных и гуморальных факторов врожденного и адаптивного иммунитета, регистрируемое в периоперационном периоде, диктует необходимость использования иммунокорректоров уже на этапе предоперационной подготовки.

Литература

1. Бутров А.В., Борисов А.Ю. Современные подходы к фармакотерапии послеоперационной боли с применением синтетических опиоидов и ненаркотических анальгетиков // *Русский мед. журнал*. 2004. № 24. С. 1434–1437.

2. Горобец Е.С. Подходы к современному послеоперационному обезболиванию // *Хирургия*. 2007. № 1. С. 26–31.
3. Овечкин А.М. Послеоперационный болевой синдром: клинико-патфизиологическое значение и перспективные направления терапии // *Consilium. Medicum*. 2005. Т. 7, № 6. С. 486–490.
4. Овечкин А.М., Гнездилов А.Д., Морозов Д.В. Лечение и профилактика послеоперационной боли. Мировой опыт и перспективы // *Боль и ее лечение*. URL: <http://www.painstudy.ru/mats/review/posleoper.htm> (дата обращения 02.03.2009).
5. Liu S., Carpenter L., Mackey D. Effects of perioperative analgesic technique on rate of recovery after colon surgery // *Anesthesiology*. 1995. Vol. 83. P. 757–765.
6. *Postoperative Pain Management – Good Clinical Practice // General recommendations and principles for successful pain management. Produced with the consultations with the European Society of Regional Anaesthesia and Pain Therapy / project chairman N. Rawal, 2005. 57 p.*
7. Wheatley R., Schug S., Watson D. Safety and efficacy of postoperative epidural analgesia. // *Brit. J. Anaesth.* 2001. Vol. 87. P. 47–61.

Поступила в редакцию 27.03.2009.

ENDOTHELIAL AND IMMUNE DYSFUNCTIONS DURING EARLY PERI-OPERATIVE PERIOD IN PATIENTS WITH LOWER LIMB INJURIES

S.P. Kryzhanovskiy¹, T.S. Zaporozhets²

¹ Medical Society, FEB RAS (95 Kirov St. Vladivostok 690022 Russia), ² Research Centre of Epidemiology and Microbiology of the RAMS, Siberian Branch (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia)

Summary – The authors have studied adequacy and role of analgesia in developing endothelial and immune dysfunctions during the early peri-operative period with respect to 20 patients aged 40 to 60 with serious lower limb injuries. As shown, there were cellular and humoral dysfunctions of innate and adaptive immunity in the form of depression. These were observed by the moment of surgical treatment at the background of endothelial dysfunction. Lacking significant differences in the parameters indicating the state of immune system and endothelium in the dynamics of the early peri-operative period were indicative of an adequate character of anaesthesia. The analgesic of peripheral action (ketoprofen) was combined with opioids (promedol) and allowed to maintain postoperative homeostasis and balance between pro- and anti-inflammatory potentials of immunocompetent cells, thus preventing extended stress response to the surgery.

Key words: postoperative pain, endothelium, adhesion molecules and activation antigens, lymphocytes.