

Артамонова З.А., Намоконов Е.В.

НОВЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИАГНОСТИКЕ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 672000, Чита, Россия

Отсутствие четкой клинко-лабораторной картины, субъективность оценки жизнеспособности кишечника, прогрессирование некроза кишки в послеоперационном периоде при острой мезентериальной ишемии (ОМИ) способствует высокой летальности. Ранее экспериментально нами было доказано, что некроз кишки приводит к изменениям в субпопуляционной структуре лимфоцитов крови. Это побудило нас определить клиническое значение субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови у пациентов с острой мезентериальной ишемией. Работа построена на основании ретроспективного анализа результатов контролируемого клинко-иммунологического обследования 18 пациентов в возрасте от 62 до 78 лет (контрольная группа и группа ОМИ). Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови. Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистики. У пациентов в группе ОМИ отмечено достоверное снижение как абсолютного, так и относительного числа лимфоцитов относительно таковых в контрольной группе. Изучение субпопуляционной структуры лимфоцитов также показало снижение абсолютного числа CD8, CD4, B, NK клеток и снижение относительного числа CD8, CD4, NK клеток относительно показателей в контрольной группе. Ишемия и некроз слизистой оболочки кишечника сопровождаются массивной транслокацией кишечной микрофлоры через нарушенный кишечный барьер наряду с миграцией лимфоцитов в очаг поражения и их гибелью, что проявляется снижением числа лимфоцитов в периферической крови. Комплексная оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови может быть использована в качестве дополнительного диагностического критерия некротической стадии острой мезентериальной ишемии, служить критерием отбора пациентов для проведения иммунотерапии.

Ключевые слова: мезентериальная ишемия; диагностика; лимфоциты.

Для цитирования: Артамонова З.А., Намоконов Е.В. Новые лабораторные показатели в диагностике острой мезентериальной ишемии. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 490-492.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-490-492>

Artamonova Z. A., Namokonov E. V.

NEW LABORATORY PARAMETERS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA

Chita state medical Academy, Ministry of health of the Russian Federation, 672000, Chita, Russia

Lack of clear clinical and laboratory picture of subjective evaluation of bowel viability, the progression of bowel necrosis in the postoperative period with acute mesenteric ischemia (AMI) contributes to the high mortality rate. Earlier experiments we proved that gut necrosis leads to changes in the subpopulation structure of blood lymphocytes. This prompted us to determine the clinical significance of the subpopulation structure of venous blood lymphocytes in patients with acute mesenteric ischemia. The paper is based on a retrospective analysis of the results of a controlled clinical and immunological examination of 18 patients aged 62 to 78 years (control group and a group of AMI). Evaluation lymphocyte subpopulation structure was performed by the standard method of direct immunofluorescence staining of whole blood. The obtained data were processed with nonparametric statistical methods. Study of lymphocyte subpopulation structure in patients with AMI patients showed a decrease in the absolute and relative number of CD8, CD4, B, NK cells on the indicators in the control group. Ischemia and necrosis of the intestinal mucosa accompanied by a massive translocation of intestinal microflora through the impaired intestinal barrier along with the migration of lymphocytes into the lesion and death, which is manifested in a decrease in the number of lymphocytes of the peripheral blood. Comprehensive assessment of venous blood lymphocyte subpopulation structure can be used as an additional diagnostic criterion necrotic step AMI, serve as criteria for selection of patients for immunotherapy.

Key words: mesenteric ischemia; diagnosis; lymphocytes.

For citation: Artamonova Z. A., Namokonov E. V. New laboratory parameters in the diagnosis of acute mesenteric ischemia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 490-492 (in Russ.)
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-490-492>

For correspondence: Artamonova Z.A., Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of General and Specialized Surgery; e-mail: zoyaartamonova@mail.ru

Information about authors:

Artamonova Z.A., <http://orcid.org/0000-0003-4674-5908>

Namokonov E.V., <http://orcid.org/0000-0001-7029-9173>

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 17.05.2019
Accepted 31.05.2019

Введение. В диагностике острой мезентериальной ишемии (ОМИ) остается множество нерешенных проблем [1]. Отсутствие четкой клинико-лабораторной картины [2], субъективность оценки жизнеспособности кишечника, прогрессирование некроза кишки в послеоперационном периоде способствует высокой летальности при данном заболевании [3]. По мнению К. Karabulut [4] лабораторный маркер ОМИ должен находиться в слизистой оболочке кишки, не разрушаться в печени и определяться в периферической крови. Вместе с тем известно, что ЖКТ выполняет не только пищеварительную, но и иммунную функцию. Также известно, что лимфоидная ткань, связанная со слизистыми желудочно-кишечного тракта – самый большой по объему отдел иммунной системы [5].

Ранее, экспериментально нами было доказано, что при полной окклюзии краниальной брыжеечной артерии прогрессирует снижение числа лимфоцитов, увеличивается отношение CD4/CD8 в крови [6,7].

Все вышеперечисленное побудило нас определить клиническое значение субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови у пациентов с острой мезентериальной ишемией.

Материал и методы. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации. Наша работа построена на основании ретроспективного анализа результатов контролируемого клинико-иммунологического обследования 18 пациентов в возрасте от 62 до 78 лет. Это 9 практически здоровых человек (без признаков аллергических, аутоиммунных, инфекционных и паразитарных заболеваний), проходивших диспансеризацию (контрольная группа) и 9 пациентов с острой мезентериальной ишемией, некротическая стадия (группа ОМИ). В группе ОМИ у всех пациентов наблюдался тромбоз верхней брыжеечной артерии, некроз тонкой кишки, подтвержденный интраоперационно и гистологически. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Кровь для иммунологического обследования получали путем пункции локтевой вены в строго стерильных условиях. Для иммунофенотипирования кровь забирали в пробирку VACUTAINER (BD), содержащую динатриевую соль ЭДТА объемом 2,5 мл.

Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием коммерческого лизирующего/фиксирующего раствора OPTILYSE C (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител tetraCHROME™ и IOTest (Beckman Coulter): 1-ая панель – CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и HLA-DR-PC7; 2-ая панель – CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 и CD16-PC7. Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, USA), регистрировали суммарно не менее 10 тыс. событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистики. Для показателей определялись медиана (Me), 75-й и 25-й перцентили (75-й; 25-й). Сравнение медиан выборок осуществляли по критерию Колмогорова - Смирнова. Различия величин признавали достоверными при критическом уровне $p \leq 0,05$. Обработка результатов производилась с помощью пакета

компьютерных программ BioStat, Microsoft Excel 2007 для Windows XP.

В таблице представлены средние уровни показателей субпопуляции лимфоцитов крови пациентов контрольной группы и пациентов из группы ОМИ. Сравнение изучаемых показателей выявило статистически достоверные отличия. У пациентов в группе ОМИ абсолютное число лимфоцитов было на 82 %, а относительное – на 86% ниже чем в контрольной группе. Изучение субпопуляционной структуры лимфоцитов показало снижение абсолютного числа CD8 клеток на 89 %, CD4 клеток – на 87%, В-клеток на 67%, NK-клеток на 92% относительно показателей в контрольной группе. Также отмечалось снижение относительного числа CD8 клеток на 41 %, CD4 клеток – на 31%, NK-клеток на 72% относительно показателей в крови пациентов с ОМИ.

Обсуждение. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой кишечника, формируется за счет CD3- и В-лимфоцитов, NK-клеток, тучных клеток и эозинофилов [5]. При этом, несмотря на некоторую территориальную разобщенность между системным иммунитетом и лимфоидной тканью, ассоциированной со слизистыми, все основные группы системы функционируют как единое целое, а лимфоидная ткань и лимфоидные органы желудочно-кишечного тракта теснейшим образом функционально связаны как с системным иммунитетом, так и с другими компонентами лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми [8]. Первыми на пути проникновения инфекции через ЖКТ являются межэпителиальные лимфоциты, которые в 98% представлены Т-клетками, из которых 75% составляют CD3 [8]. Исследованием ряда авторов установлено, что уже на 30 минуте тотальной ишемии происходит нарушение межэпителиальных контактов слизистой кишечника [9]. То есть, ишемия и некроз слизистой оболочки кишеч-

Сравнительная таблица основных популяций иммунных клеток в контрольной группе и группе ОМИ (Me; 25-й; 75-й)

Показатель	Контрольная группа (n=9)	Группа ОМИ (n=9)
Лимфоциты, %	30,5 (29; 35,5)	4,25 (2,8; 6,6) $p < 0,001$
Лимфоциты, кл/мкл	2715,5 (2504; 2802,5)	488 (399,5; 560) $p < 0,005$
CD4-клетки, %	49,5 (47,5; 53,5)	34,25 (21; 47,8) $p < 0,1$
CD4-клетки, кл/мкл	1152 (1009; 1287,5)	148,5 (81,5; 271) $p < 0,005$
CD8-клетки, %	30,5 (28,5; 33,5)	18 (10,95; 19,35) $p < 0,005$
CD8-клетки, кл/мкл	851 (778; 911)	91 (49; 109) $p < 0,001$
CD4/CD8	2,4 (2,2; 2,6)	2,6 (1,7; 3,35) $p < 0,1$
В-клетки, %	14 (12; 15)	13 (8,9; 38) $p < 0,1$
В-клетки, кл/мкл	288 (215; 348)	95,5 (50,5; 191) $p < 0,025$
NK-клетки, %	13,6 (12,8; 15,5)	3,8 (0,65; 11,5) $p < 0,025$
NK-клетки, кл/мкл	266 (214; 333,5)	22 (3,5; 45) $p < 0,005$

Примечание. p - уровень значимости между показателями контрольной группы и группы ОМИ.

ника сопровождаются массивной транслокацией кишечной микрофлоры через нарушенный кишечный барьер наряду с миграцией лимфоцитов в очаг поражения и их гибелью, что проявляется снижением абсолютного числа лимфоцитов в периферической крови на 82% относительно показателей в контрольной группе. При этом отмечается снижение абсолютного числа как CD8-клеток на 89 %, так и CD4-клеток на 87%. Вместе с тем снижение относительного числа CD4 и CD8-клеток крови в группе ОМИ происходит равномерно, вследствие чего не выявлено достоверного изменения соотношения CD4/CD8. Можно предположить, что снижение абсолютного числа NK-клеток на 92% связано с гибелью последних на фоне чрезмерного поступления антигенов, когда, кроме антиген-специфических механизмов элиминации патогена, задействованы антиген-неспецифические [5]. Некроз стенки кишечника сопровождается также и снижением абсолютного числа В-клеток на 67%.

Заключение. Таким образом, результаты исследования выявили достоверные изменения в субпопуляционной структуре лимфоцитов у пациентов с некрозом тонкой кишки при острой мезентериальной ишемии. Выявленное снижение числа иммунокомпетентных клеток может иметь патогенетическое значение в прогрессировании некроза и возникновении осложнений в послеоперационном периоде при ОМИ. Комплексная оценка субпопуляционной структуры лимфоцитов венозной крови может быть использована в качестве дополнительного диагностического критерия некротической стадии острой мезентериальной ишемии [10], служить методом иммуномониторинга и критерием отбора пациентов для проведения иммунотерапии.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хрипун А.И., А.В. Саликов А.В., Прямикова А.Д. Современный подход к диагностике и лечению острого нарушения мезентериального кровообращения. *Хирургия*. 2014; (6): 36-42.
2. Баешко А.А., Климук С.А., Юшкевич В.А. Причины и особенности поражений кишечника и его сосудов при остром нарушении брыжеечного кровообращения. *Хирургия*. 2005; (4): 57 - 63.
3. Лемешевский, А.И. Проблема острой мезентериальной ишемии. *Белорусский медицинский журнал*. 2008; (3): 34 - 8.
4. Karabulut K., Gül M., Dündar ZD., Cander B., Kurban S., Toy H. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and phosphorus in acute mesenteric ischemia. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011; (17): 193-8.
5. Хайтов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. Учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
6. Артамонова З.А., Намоконов Е.В., Терешков П.П., Обыденко В.И. Роль некоторых показателей иммунной системы в прогнозировании развития острой мезентериальной ишемии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2015; 8 (3): 287-290

7. Артамонова З.А., Семинский И.Ж., Намоконов Е.В. Влияние острой окклюзии краниальной брыжеечной артерии на динамику показателей клеточного иммунитета и интерлейкинов -6,-8 в эксперименте. *Сибирский медицинский журнал*. 2015; (7): 71-4.
8. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта (сообщение 1). *Анналы хирургической гепатологии*. 2002; 7 (2): 105-10.
9. Кувшинов А.Г., Ильичева Е.А., Рой Т.А., Максиков Д.И., Лепехова С.А., Коваль Е.В. и др. Закономерности развития бактериальной транслокации при остром прекращении магистрального кровотока в бассейне краниальных брыжеечных сосудов. *Бюллетень СО РАМН*. 2003; 5: 155-9.
10. Намоконов Е.В., Артамонова З.А., Терешков П.П. Способ прогнозирования некроза кишки у больных острой мезентериальной ишемией. Патент РФ № 2677652; 2018.

REFERENCES

1. Khripun A.I., A.V. Salikov A.V., Pryamikov A.D. Modern approach to diagnostics and treatment of an acute disorder of mesenterialny blood circulation. *Khirurgiya*. 2014; (6): 36-42. (in Russian)
2. Baeshko A.A., Klimuk S.A., Yushkevich V.A. The reasons and features of damages of intestines and its vessels at an acute disorder of mesenteric blood circulation. *Khirurgiya*. 2005; (4): 57 - 63. (in Russian)
3. Lemeshevskiy, A.I. Problema of acute mezenterialny ischemia. *Belarusian medical journal*. 2008; (3): 34 - 8.
4. Karabulut K., Gül M., Dündar ZD., Cander B., Kurban S., Toy H. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and phosphorus in acute mesenteric ischemia. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011; (17): 193-8.
5. Khaitov R.M. Immunology: structure and functions of the immune system: Manual. [Immunologiya: struktura i funktsii immunnogo sistemy. Uchebnoe posobie]. Moscow: GEOTAR-media; 2013. (in Russian)
6. Artamonova Z.A., Namokonov E.V., Tereshkov P.P., Obydenko V.I. A role of some indicators of the immune system in forecasting of development of acute mezenterialny ischemia. *Vestnik eksperimental' noy i klinicheskoy khirurgii*. 2015; 8 (3): 287-90. (in Russian)
7. Artamonova Z.A., Seminskiy I.Zh., Namokonov E.V. Influence of acute occlusion of a cranial mesenteric artery on dynamics of indicators of cellular immunity and interleukins-6,-8 in an experiment. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; (7): 71-4. (in Russian)
8. Khaitov R.M., Pinegin B.V. New data on the building and functioning of the immune system of digestive tract (message 1). *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*. 2002; 7 (2): 105-10. (in Russian)
9. Kuvshinov A.G., Il'icheva E.A., Roy T.A., Maksikov D.I., Lepekhova S.A., Koval' E.V. et al. Regularities of development of a bacterial translocation at the acute termination of the main blood-groove in the pool of cranial mesenteric vessels. *Bulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk*. 2003; 5: 155-9. (in Russian)
10. Namokonov E.V., Artamonova Z.A., Tereshkov P.P. A way of forecasting of a necrosis of a gut at patients with acute mezenterialny ischemia. Patent RF № 2677652; 2018. (in Russian)

Поступила 17.05.19

Принята к печати 31.05.19