



Бактериальная транслокация в системный кровоток у пострадавших с сочетанной травмой

М.Е. Малышев, Д.Ш. Саъдулаев, О.Б. Арискина, Л.Н. Попенко
ГБУ СПб Научно-исследовательский институт скорой помощи
им. И.И.Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия

При сочетанной травме, сопровождающейся шоком II и III степени тяжести, бактериальная транслокация со слизистых оболочек в системный кровоток выявлена у 28,6% пациентов в первые 12-24 часа после травмы. По времени это событие совпадает со значительным увеличением содержания в крови секреторного IgA и HLA DR+ моноцитов и лимфоцитов у пациентов с выявленной бактериемией.

Особенностью иммунной реактивности больных с бактериальной транслокацией в системный кровоток явились: замедленная мобилизация нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов в кровь, менее выраженная цитокинемия, функциональная недостаточность нейтрофильных гранулоцитов крови и высокая реактивность эпителиальных клеток и В-лимфоцитов слизистых оболочек.

Ключевые слова: сочетанная травма, бактериальная транслокация, системный кровоток, травматическая болезнь

Актуальность. При сочетанной травме (СТ), сопровождающейся развитием шока, появляется гипоперфузия тканей и острая тканевая гипоксия, что приводит к увеличению проницаемости стенок сосудов микроциркуляторного русла, изменению реактивности эпителия и клеток иммунной системы слизистых оболочек. При этом создаются условия для бактериальной транслокации (БТ) со слизистых оболочек, в частности, кишечника, в мезентериальные лимфоузлы, а в отдельных случаях – в системный кровоток [1,2].

Роль БТ в развитии гнойных осложнений и, в особенности, раннего посттравматического сепсиса при критических состояниях, в частности, при тяжёлой травме, до сих пор обсуждается. Согласно одной из теорий, БТ возникает при резком угнетении иммунитета вследствие стресса, травмы или иного экстремального воздействия или является патогенетическим звеном ряда заболеваний, тогда как у здорового организма кишечный барьер непроницаем для бактерий [3]. Другие авторы считают, что транслокация бактерий является не только механизмом проникновения возбудителей, но и запускает механизм иммунной защиты [4]. При этом чувствительность организма к воздействию повреждающих факторов зависит не только от тяжести травмы и возраста, но и от сопутствующих нарушений иммунной реактивности, наличия хронических заболеваний, сопровождающихся изменением микрофлоры, нарушением обмена веществ [5,6].

Цель исследования: изучить особенности иммунной реактивности у пострадавших с сочетанной травмой, у которых выявлена бактериальная транслокация в системный кровоток, а также влияние этого феномена на течение раннего периода травматической болезни.

Материал и методы. Обследовано 28 пострадавших с СТ, сопровождавшейся шоком II и III степени тяжести, поступивших в противошоковое отделение ГБУ СПб НИИ СП им. И.И. Джанелидзе. Все пострадавшие были разделены на 2 группы: 1 группа – пациенты, у которых не выявлено БТ в кровоток (20 чел.) и 2 группа – с БТ в кровь (8 чел.). Группа сравнения – 30 здоровых доноров (средний возраст $35,0 \pm 2,9$ года). Тяжесть травмы оценивали по величине ISS (Injury Severity Score). Развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), сепсиса и тяжёлого сепсиса определяли по наличию признаков, представленных в рекомендациях Калужской согласительной конференции (2004). Тяжесть нарушений функций органов и систем, связанных с сепсисом, оценивали по шкале SOFA (1994), принятой Европейским обществом интенсивной терапии (табл.1).

Степень гипоксии у пострадавших оценивали по уровню PaO_2 в артериальной крови. С целью выявления бактериемии проведено бактериологическое исследование крови и ДНК-диагностика проб крови, полученных при поступлении пациентов, через 12 и 24 часа после травмы. Также определяли количество

ТАБЛИЦА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП ПОСТРАДАВШИХ С СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ

Группа пациентов	Средний возраст, годы	Количество пострадавших		Величина ISS	SOFA (через 1 сутки после травмы)
		Выживших	Умерших		
1 группа (пострадавшие без БТ) (n=20)	37,3±10,5	14 (70%)	6 (30%)	14,2±4,1	4,4±2,4
2 группа (пострадавшие с БТ) (n=8)	38,3±12,1	7 (87%)	1 (13%)	19,7±4,6	4,0±1,3
Контрольная группа (n=30)	35,4±5,1				

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ PаO₂ В АРТЕРИАЛЬНОЙ КРОВИ У ПОСТРАДАВШИХ С СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ

Группа пациентов	Поступление	Уровень PаO ₂ (мм рт.ст.)		
		1 сутки	3 сутки	5 сутки
1 группа (пострадавшие без БТ) (n=20)	79,0±6,3#	78,7±7,3#	70,3±8,4#	85,5±5,2
2 группа (пострадавшие с БТ) (n=8)	76,5±7,9#	75,7±8,4#	71,7±6,6#	89,3±5,2
Контрольная группа (n=30)		93,8±3,5		

Примечание: # – P<0,05 по сравнению с контрольной группой

лейкоцитов и их популяций в крови. Содержание CD HLA-DR⁺ и CD14⁺ мононуклеаров, defensin (HNP-1)⁺ нейтрофильных гранулоцитов (def⁺HГ) оценивали с помощью иммуноцитохимического метода (моноклональные антитела Novocastra, UK). Содержание ИЛ-6, ИЛ-10, кортизола и sIgA в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа («Bender MedSystems», Австрия; «Вектор-Бест», РФ). Исследования проведены при поступлении пациентов в стационар, через 12 ч., 24 ч., на 3 и 5 сутки после травмы. Статистическая обработка данных исследования осуществлена с помощью программ Excel и Statistica for Windows.

Результаты и их обсуждение. Пациенты обеих групп имели сопоставимый возраст и не отличались по тяжести травмы. У всех пострадавших в течение 12 часов после инцидента наблюдали признаки синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). При этом в 1 группе у 9 (45%) пострадавших на 3-5 сутки после травмы диагностировали сепсис и у 7 (35%) пострадавших – тяжёлый сепсис. 5 пациентов с тяжёлым сепсисом умерли.

У пациентов 2 группы в течение 12-24 часов после травмы в крови выявлены *Str. pyogenes*, *Str. β-haemolyticus*, *Ps. alialigens*, *Moraxella sp.*, *Corinebacter sp.*, *Candida albicans*. Течение раннего периода после травмы также осложнилось развитием сепсиса у 3 (37,5%) пациентов и тяжёлого сепсиса у 4 (50%) пациентов. В этой группе зафиксирован 1 летальный исход.

Известно, что нарушение мезентериального кровообращения и развитие тканевой гипоксии может индуцировать БТ. При интестинальной ишемии различного генеза (геморрагический шок, перевязка сосудов

брыжейки) изменяется функциональная активность мононуклеаров и эпителиальных клеток слизистой оболочки, нарушается проницаемость сосудистой стенки и тканей кишечной стенки [7-9]. У всех пострадавших мы наблюдали снижение PаO₂ в артериальной крови в течение 3 суток после травмы, однако различий между группами не наблюдали (табл.2).

При анализе содержания в крови количества клеток миелоидного и лимфоидного ростков обнаружили, что у пациентов с выявленной транслокацией бактерий в кровотоке в течение 12 часов после поступления содержание НГ и моноцитов в крови достоверно ниже по сравнению с пациентами 1 группы. Также, у пациентов этой группы во время поступления, в отличие от пациентов 1 группы, не наблюдалось лимфоцитопении (рис.1). Возможно, эти изменения являются свидетельством меньшей активности мобилизации клеток миелоидного ростка (гранулоцитов и моноцитов), обеспечивающих немедленную неспецифическую антибактериальную защиту и её регуляцию у пострадавших 2 группы.

Антибактериальный потенциал нейтрофильных гранулоцитов определяется присутствием в их цитоплазматических гранулах бактерицидных факторов, к числу которых относятся дефенсины человека 1,3 типов. Как видим на рисунке 2, для пострадавших с тяжёлой сочетанной травмой характерно значительное снижение доли дефенсинпозитивных гранулоцитов вплоть до 3 дня наблюдения, а у пациентов с БТ восстановление численности этих клеток не наблюдается до 5 суток после травмы. Безусловно, это является важным показателем снижения функциональной активности микрофагоцитов и защиты от грамм (+) и грамм (-) бактерий, грибов.

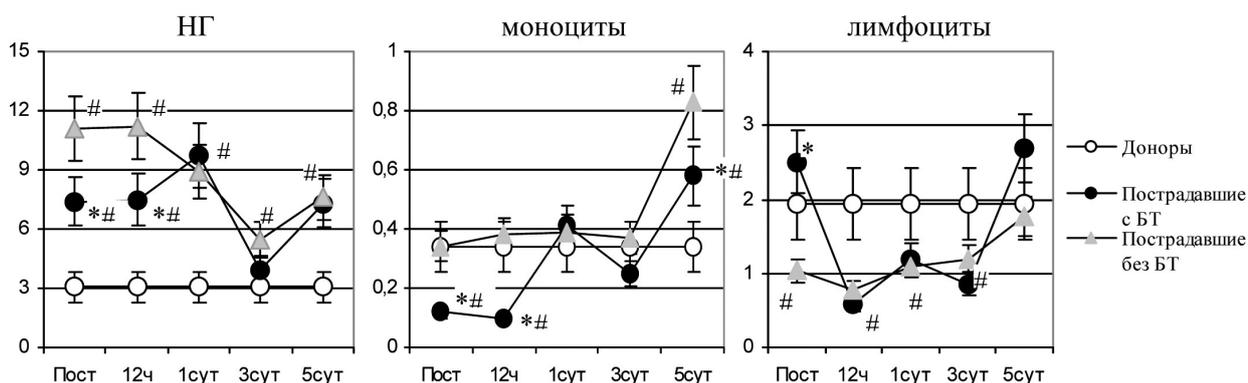


РИС.1. АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ НГ, МОНОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТОВ ($10^9/\text{л}$) В КРОВИ ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
 # - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; * - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

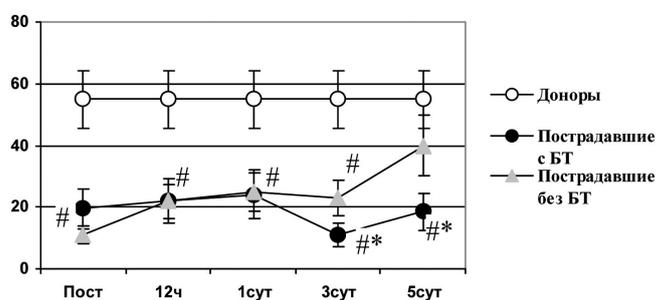


РИС.2. КОЛИЧЕСТВО DEF+НГ (%) В КРОВИ ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
 # - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; * - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

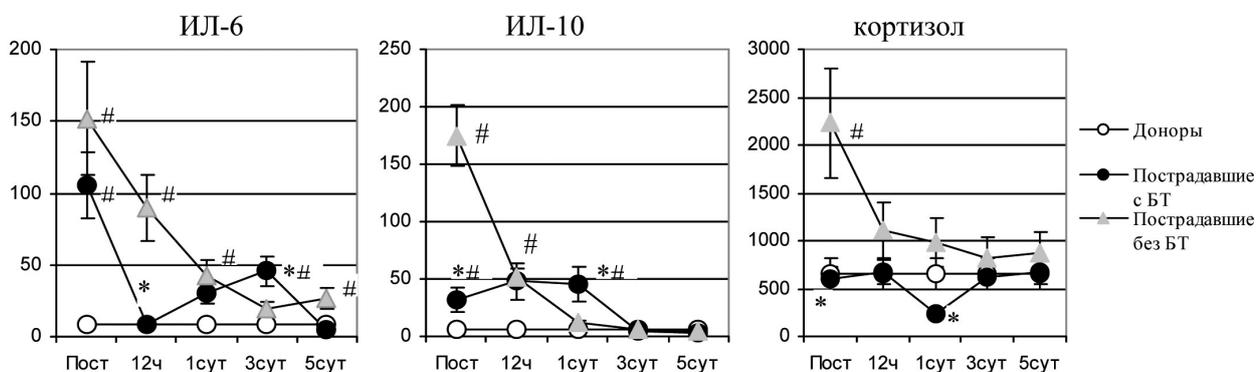


РИС.3. СОДЕРЖАНИЕ ИЛ-6 (ПГ/МЛ), ИЛ-10 (ПГ/МЛ) И КОРТИЗОЛА (НГ/МЛ) У ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
 # - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; * - $P < 0,05$ ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

Развитие острой системной воспалительной реакции при тяжёлой механической травме характеризуется усилением продукции и секреции цитокинов различных функциональных групп, увеличением содержания в крови стрессорных гормонов, таких как кортизол [10]. У пострадавших с бактериальной транслокацией мы наблюдали достоверно более низкое содержание в крови полифункционального интерлейкина-6 (медиатор острого и хронического воспаления, индуцирует продукцию острофазовых

белков и иммуноглобулинов, участвует в регуляции гемопоэза и др.) уже через 12 часов после травмы, и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 – во время поступления (рис.3). Также, у пациентов этой группы мы наблюдали нетипичный для первых часов травматического шока уровень кортизола в сыворотке крови, свидетельствующий о низкой реакции со стороны секреторных клеток коры надпочечников в ответ на стресс, боль и кровопотерю (рис.3).

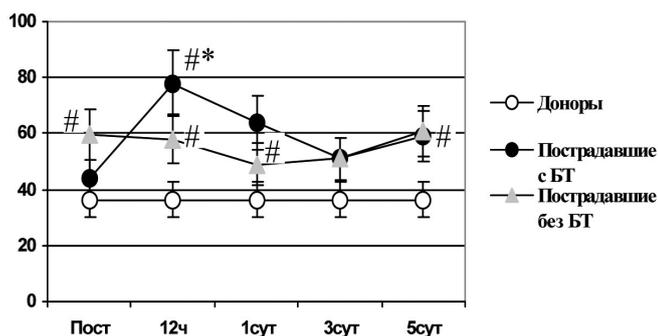


РИС.4. СОДЕРЖАНИЕ HLA-DR⁺КЛЕТОК В КРОВИ (%) ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
#- P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; * - P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

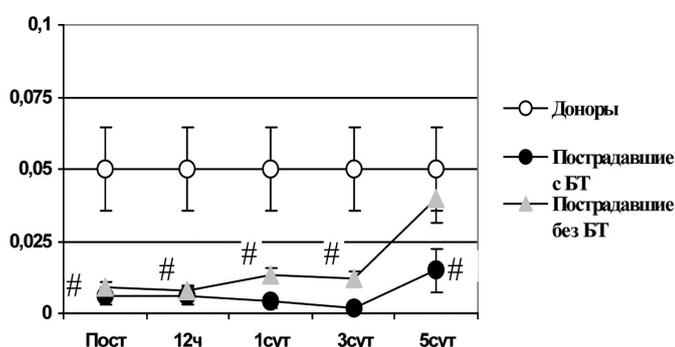


РИС.5. СОДЕРЖАНИЕ CD14⁺КЛЕТОК КРОВИ (·109/л) У ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
#- P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; * - P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

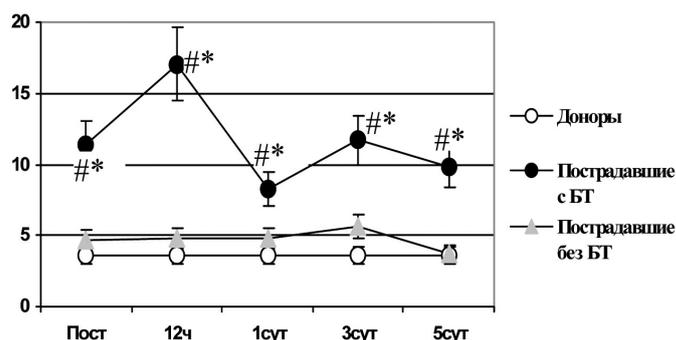
Необходимым условием развития реакций клеточного и гуморального иммунитета является непосредственный клеточный контакт и презентация бактериальных антигенов Т-лимфоцитам через взаимодействие экспрессируемых преимущественно моноцитами антигенов II класса ГКГС (HLA-DR) с Т-клеточным рецептором. Исследования показали, что в крови пациентов 2 группы через 12 и 24 часа после поступления относительно содержание HLA-DR⁺клеток было достоверно выше, чем у пациентов 1 группы. В это же время выявляли и бактериемию у больных 2 группы (рис.4).

Если распознавание бактериальных антигенов и их презентация Т-лимфоцитам/хелперам предшествует развитию специфического гуморального ответа, то экспрессия моноцитами крови рецепторов, распознающих патогенные паттерны бактерий, или Toll-like-рецепторов (TLR), отражает активацию неспецифической антибактериальной защиты. При этом происходит инициация ряда биохимических каскадов, что приводит к увеличению секреции провоспалительных цитокинов, хемокинов, протеолитических ферментов, усилению экспрессии адгезионных молекул, что обеспечивает участие клеток в воспалении и регенерации. Рецептор, связавший опсонизированный маннозосвязывающим белком

бактериальный антиген, выявляется с помощью моноклональных антител к CD14. У пациентов обеих групп содержание клеток, экспрессирующих TLR (CD14+ клеток), было снижено, но у пострадавших с БТ в системный кровоток этот показатель, начиная с 1 суток, был достоверно ниже, чем у больных 1 группы (рис.5).

Важным фактором местного иммунитета слизистых оболочек является секреторный иммуноглобулин А (sIgA) [4-6], который продуцируется активированными В-лимфоцитами и эпителиальными клетками слизистых оболочек и необходим для ранней неспецифической антимикробной защиты слизистых оболочек.

Увеличение содержания sIgA наблюдалось у пациентов с выявленной бактериемией на протяжении всего острого периода после травмы, а пик отмечен через 12 часов, что совпадало со временем транслочации бактерий в кровь по данным инфекционной диагностики (рис.б). Существующее уже во время поступления повышение уровня sIgA, возможно, свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса бактериальной этиологии, ассоциированного со слизистыми оболочками, у пациентов этой группы.


РИС.6. СОДЕРЖАНИЕ SIGA (Г/Л) У ПОСТРАДАВШИХ С СТ:
#- P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППОЙ; *- P<0,05 ПО СРАВНЕНИЮ С ПОСТРАДАВШИМИ БЕЗ БТ

Таким образом, при сочетанной травме, сопровождающейся шоком II и III степени тяжести, бактериальная транслокация со слизистых оболочек в системный кровоток выявлена у 28,6% пациентов в первые 12-24 часа после травмы. По времени это событие совпадает со значительным увеличением содержания в крови секреторного IgA и HLA DR⁺ моноцитов и лимфоцитов у пациентов с выявленной бактериемией.

Особенностью иммунной реактивности больных с бактериальной транслокацией в системный кровоток явились замедленная мобилизация нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов в кровь, менее выраженная цитокинемия, функциональная недостаточность нейтрофильных гранулоцитов крови и высокая реактивность эпителиальных клеток и В-лимфоцитов слизистых оболочек.

При сравнительном анализе характера течения острого периода травматической болезни у пациентов с сочетанной травмой, как без транслокации, так и с подтвержденной транслокацией в кровоток, не обнаружено достоверных различий по частоте и тяжести развития гнойных осложнений и исходу заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

- Cruz N. Bacterial translocation across enterocytes: results of a study of bacterial-enterocyte interactions utilizing Caco-2 cells / N.Cruz, X.Alvarez, R.D.Berg, E.A.Deitch// - 1994. - Jan. - V. 1(1). - P.67-72
- Berg R.D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract / R.D.Berg// J. Med. -1992. - V.23(3.4). - P. 217-244
- Галеев Ю.М. Морфофункциональная оценка тонкой кишки при механической непроходимости кишечника / Ю.М.Галеев [и др.]// РЖГПК. - 2008. - Т.18. - №5. - С.45-53
- Никитенко В.И. Взаимоотношения макроорганизма и бактерий в ране и тканях человека и животных / В.И.Никитенко// Хирургия. - 1990. - №9. - С. 94-99
- Sawai T. Effect of secretory immunoglobulin A on bacterial translocation in an enterocyte-lymphocyte co-culture model / T.Sawai [et al.]// Pediatr Surg. Int.-2001. - V.17(4). - P. 275-279
- Hogarth P.M. IgA receptor in health and disease / P.M.Hogarth// Tissue Antigens. - 2006. - V.68(2). - P.103-114
- Grotz M.R. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure /M.R.Grotz [et al.]// Ann. Surg. - 1999. - V.229(4). - P. 478-486
- Deitch E.A. Effect of stress and trauma on bacterial translocation from the gut / E.A.Deitch, R.M.Bridges// J. Surg. Res. - 1987. - Vol.42(5). - 536-542
- Bibbo C. Bacterial translocation after mesenteric ligation in dogs / C.Bibbo [et al.]// J. Invest. Surg. - 1996. - Vol. 9(4). - P.293-303
- Хайтов Р.М. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта / Р.М.Хайтов, Б.В.Пинегин// Анналы хирург. гепатологии.- 2002.- Т.7.- №2.- С.105-110



Summary

Bacterial translocation into systemic blood flow in suffered with concomitant injury

M.E. Malyshev, D.Sh. Sadulaev, O.B. Ariskina, L.N. Popenko

SBI St. Petersburg Research Institute of Emergency Care named after I.I.Djanelidze, St. Petersburg, Russia

In concomitant injury accompanied by shock II and III degrees, bacterial translocation from mucous membranes into the systemic blood flow was detect-ed in 28.6% of patients in the first 12-24 hours after injury. By the time this event coincides with a significant increase in blood levels of secretory IgA and HLA DR+ monocytes and lymphocytes in patients diagnosed with bacteremia.

Features of immune response in patients with bacterial translocation into the systemic circulation were: slow mobilization of neutrophils and monocytes in the blood, less evidenced cytokinemy, functional insufficiency of blood neu-trophilic granulocytes and high reactivity of the epithelial cells and B-lymphocytes of the mucous membranes.

Key words: concomitant injury, bacterial translocation, systemic blood flow, traumatic disease

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Малышев Михаил Евгеньевич – научный сотрудник СПб НИИ скорой медицинской помощи им. И.И.Джанелидзе;
Россия, г.Санкт-Петербург, ул.Будапештская, 3
E-mail: malyshev1972@yandex.ru