

# ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ В ХИРУРГИИ

## ОКСИД АЗОТА И ЦИТОКИНЫ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ПОВТОРНЫХ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ НА ГЛАЗУ

Архипова Л.Т., Леванова О.Г., Архипова М.М.

*ФГУ МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва*

*Клиническая офтальмологическая больница,  
г. Киров, Россия*

Повторные оперативные вмешательства на глазу нередко приводят к развитию послеоперационных увеитов, патогенез которых сложен и недостаточно изучен, ключевая роль принадлежит иммунным нарушениям и формированию аутоиммунных реакций. В последние годы благодаря достижениям молекулярной биологии накопилось немало данных, подтверждающих важную роль оксида азота (NO) в системном и локальном воспалении, в инициации и патогенезе увеитов различной этиологии. Известно, что синтез NO тесно связан с выработкой цитокинов.

**Цель работы:** провести клинико-иммунологический и биохимический мониторинг с определением уровня NO в слезной жидкости (СЖ) и концентрацией цитокинов в СЖ и сыворотке крови (СК) в динамике до и после повторных операций на глазу.

**Материал и методы.** Использован непрямой метод оценки активности NO путем определения уровня его метаболитов NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> в СЖ с помощью реактива Грисса и цитокинов – ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНОα и ТФР-β1 в СЖ и СК методом иммуноферментного анализа у 56 больных с различным характером течения послеоперационного периода и у 12 практически здоровых лиц. Исследования проводили в динамике: до операции, через 1-3 дня после операции и при выписке больного из стационара.

**Результаты.** Средний уровень метаболитов NO в СЖ у здоровых лиц составил 74,0±5,7 мкмол/л. Ретроспективный анализ показал, что при развитии послеоперационного увеита в дооперационном периоде более, чем у половины больных (61,1%) отмечался повышенный уровень метаболитов NO – на 36,4% больше по сравнению с контролем и у 1/3 больных имели место сниженные показатели, на 31,8% ниже, чем в контроле. У подавляющего числа больных с благоприятным течением уровень метаболитов NO находился в пределах незначительных отклонений от нормы. Частота выявления цитокинов в СЖ и СК до операции была различной и в СК наибольшей для ИЛ-2 – 83,3% и ТФР-β1 – 93,7%. Выявлены наиболее характерные корреляционные взаимосвязи уровней NO в СЖ оперируемого глаза и цитокинов в СК и СЖ при различном характере течения послеоперационного периода. Отмечена тенденция к повышению уровня NO в СЖ в первые 1-3 дня после операции с последующим снижением его после лечения кортикостероидами и цик-

лоспорином Гексал, сочетающееся с системным повышением концентрации ИЛ-2 и ТФР-β1.

**Заключение.** Фактором риска ранних воспалительных осложнений после повторных оперативных вмешательств могут служить отклонения уровня NO до операции, как в сторону повышения, так и снижения. Повышение уровня NO перед повторным оперативным вмешательством подтверждает данные литературы о длительном сохранении повышенной сосудистой проницаемости в глазу и потере «иммунной привилегированности» глаза после первичных внутриглазных операций. С другой стороны, снижение уровня NO на фоне системных и местных нарушений цитокинового статуса может служить показателем недостаточности защитных механизмов и неблагоприятным фоном для проведения повторных оперативных вмешательств.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ НЕЗАВЕРШЕННОЙ КОНСОЛИДАЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПОЗВОНОЧНИКА

Бердюгина О.В.

*ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург, Россия*

Широкое внедрение современных методов реабилитации пациентов с костно-суставной патологией сопровождается нерешенными вопросами контроля и прогнозирования часто встречающихся осложнений, например, таких, как незавершенное сращение костной ткани, в том числе при повреждении позвоночника. Свои преимущества для решения этих задач показал иммунологический мониторинг, который ранее использовался в других областях медицины.

**Целью** работы стало определение условий проведения иммунологического мониторинга незавершенной консолидации костной ткани при оперативном лечении повреждений позвоночника.

Были исследованы иммунологические показатели при регенерации костной ткани у 111 больных с повреждениями позвоночника до и после остеосинтеза аппаратом внешней фиксации и переднего спондилодеза, из них у 14 человек (12,6%) отмечалось незавершенное сращение костной ткани. Исследования проводили при поступлении больного в клинику и в динамике после операции на 3, 10 сутки, 1 месяц после первого этапа оперативного лечения и до операции на 3, 10 сутки, 1, 2, 5, 6 месяцев после переднего спондилодеза. Обследование включало общий анализ крови с вычислением основных лейкоцитарных индексов. Фенотипирование лимфоцитов осуществляли с помощью ФИТЦ-меченых анти-CD3 и CD19-моноклональных антител («Сорбент», Москва) методом флуоресцентной микроскопии. Фагоцитоз и функционально-

метаболическую активность нейтрофилов исследовали в реакции поглощения инертных частиц латекса, установлении концентрации лактоферрина методом иммуноферментного анализа (ИФА), активности катионных белков цитохимическим методом. Определение иммуноглобулинов (Ig) А, М, G проводили методом простой радиальной иммунодиффузии, Ig E – методом ИФА. Методом ИФА определяли концентрацию цитокинов ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-1 $\gamma$ , ИЛ-8, ФНО $\alpha$  («Протеиновый контур», «Цитокин», Санкт-Петербург, «BioSource International», США). Острофазовую реакцию, в связи с неоднозначностью, оценивали по динамике концентрации нескольких белков – СРБ, фибриногена, гаптоглобина, церулоплазмينا, альбумина. Статистические методы исследования были выполнены с использованием компьютерной программы «STATISTICA» (ver. 6.0) и включали базовые статистики и теорию Байеса. Для каждого из предложенных прогностических критериев установлено пороговое значение, норма, рассчитана чувствительность, специфичность, а также ожидаемая ценность использования.

Установлено, что у больных с незавершенным сращением костной ткани, в отличие от больных с нормальным остеогенезом, до операции отмечались реактивные изменения лейкопоза. Фиксировалась, прежде всего, нейтрофильная реакция, а также увеличение некоторых лейкоцитарных индексов. Также у этой группы больных наблюдалось снижение относительного количества лимфоцитов и эозинофилов. Послеоперационный период характеризовался угнетением иммунных реакций. Отмечалось снижение числа фагоцитов, моноцитов и эозинофилов ( $p < 0,05$ ). Понижалась продукция иммуноглобулинов – Ig А и IgM. На 3 сутки после спондиледеза наблюдалось снижение CD19<sup>+</sup>-клеток. Начиная с 10 суток постепенно снижалось количество CD3<sup>+</sup>-клеток. Динамика воспалительной реакции была снижена (по данным концентрации СРБ, альбумина, гаптоглобина, альбумина, цитокинов). Немаловажно, что через мес после спондиледеза наблюдалось увеличение числа эозинофилов, лимфоцитов и повышение лейкоцитарного индекса алергизации – все значения превышали нормальный уровень, что позволяло предполагать развитие гиперчувствительности на компоненты устройства внешней фиксации (металлические конструкции).

Особенности динамики иммунологических показателей позволили на основании теории Байеса выделить критерии прогнозирования незавершенного сращения костной ткани. Для каждого из них рассчитана чувствительность, специфичность и ожидаемая ценность. Установлено, что в качестве критериев прогнозирования могут быть использованы как данные рутинных тестов, таких как определение количества нейтрофилов, лимфо-

цитов, эозинофилов, расчет лейкоцитарного индекса интоксикации, так и показателей иммунного статуса (иммуноглобулины, С-реактивный белок). При этом, ценность рутинных тестов не уступает по значимости иммунологическим показателям (табл.). Использование выделенных критериев позволяет прогнозировать незавершенную консолидацию костной ткани на разных этапах лечения (до операции, на 3 или 10 сутки после операции).

Таким образом, иммунологический мониторинг позволяет получить информацию о функциональном состоянии костной ткани. Полученные в результате исследования данные дают возможность делать заключения об эффективности предпринятых мер лечения. Комплекс тестов, включающий определение иммуноглобулинов, CD3<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-клеток, СРБ, основных популяций лейкоцитов и расчет лейкоцитарных индексов, позволяет получить объективную, точную и быструю информацию о состоянии костной ткани на этапах оперативного лечения больного. Прогнозирование можно осуществлять на разных сроках наблюдения: 3, 10 сутки, в том числе и на дооперационном этапе наблюдения, что позволяет проводить предоперационную коррекцию состояния с учетом выявленных отклонений. Выбор тестов может осуществляться с учетом возможностей лабораторной службы, что позволяет использовать предложенные критерии в медицинских клиниках различного уровня (от крупных центров до небольших стационаров).

#### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ НЕОСУСТАВА

**Иваненко А.Б., Буркова Н.В., Конычев А.В., Кузнецов С.И.**

*Городская больница № 14, ФГУП НИИ промышленной и морской медицины, Санкт-Петербург, Россия*

Процесс регенерации тканей и, в частности, регенерация суставного хряща находится под контролем регуляторных механизмов различного уровня, включая ведущую систему межклеточных коммуникаций – цитокиновую сеть, основные компоненты которой являются продуктами клеток иммунной системы.

Актуальность проблемы моделирования неосуставов убедительно демонстрируют следующие цифры. По данным Центра хирургических инфекций (Городская больница № 14, СПб) отмечается ежегодное увеличение пациентов с гнойно-деструктивной патологией сегментов костно-суставного аппарата кисти (1999 г. – 225 больных, 2006 г. – 520 больных), которые являются потенциальными претендентами на операции подобного рода.

**ТАБЛИЦА. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ НЕЗАВЕРШЕННОЙ КОНСОЛИДАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ** (к работе Бердюгиной О.В.)

Лабораторные тесты, выделенные в качестве критериев прогнозирования	Чувствительность	Специфичность	Ожидаемая ценность
Рутинные тесты (лейкограмма, лейкоцитарные индексы)	71,4-90,1%	75,3-87,7%	73,2-92,2%
Иммунологические показатели иммуноглобулины, СРБ)	81,4-92,1%	74,5-79,6%	80,7-90,3%

**Цель** данного исследования состоит в разработке методики формирования неосустава и создании оптимальных условий регенерации раневого дефекта после операции путем проведения кинезотерапии в реабилитационный период — с одной стороны, и создания необходимого спектра (для каждого конкретного репаративного периода) информационных макромолекул, выполняющих регионарную малообъемную гемоперфузию пораженной конечности — с другой.

Предлагаемая методика восстановления функции суставов при их гнойно-деструктивном поражении и дегенеративной дисфункции проста по исполнению, не отличается дороговизной и высокоэффективна (на 95% от исходного восстанавливает функцию пораженного сустава). Хирургическим показанием к выполнению данной операции может костно-суставная патология. Суть операции, проводимой при формировании неосустава, сводится к регенерации суставных поверхностей высокооборотным электроинструментом с алмазной дисковой насадкой и к шлифовке резцированных поверхностей камнями различного размера и формы для повышения их конгруэнтности. Ранее проведение кинезиотерапии преследует следующие цели: а) биомеханическое воздействие на элементы сустава сдвигает направление регенерации в сторону неохондрогенеза; б) обеспечивает адекватный уровень кровоснабжения оперированного сегмента; в) приводит к уменьшению отека и снижению послеоперационных невротаций; г) способствует психологической реабилитации больных.

Регионарную малообъемную гемоперфузию (РМОГ) пораженной конечности проводили в 2-х вариантах. 1-й — две процедуры проводили до выполнения реконструктивно-восстановительной операции для улучшения микроциркуляции и снятия воспалительных явлений и одну процедуру — после нее. 2-й режим — все три процедуры выполняли после реконструктивно-восстановительной операции в качестве реабилитационного мероприятия, которое способствовало появлению адекватных регуляторных стимулов в зоне дефекта. Процессы восстановления и регенерации контролировали, используя специфические маркеры этих процессов, которые регистрировали в динамике методом ИФА в венозной крови, оттекающей от пораженной конечности. РМОГ обеспечивает стимулированный остео- и хондрогенез, который осуществляется под воздействием многочисленных ростовых факторов и цитокинов. Эти факторы постоянно поступают в зону неосустава с кровотоком и являются медиаторами клеточной пролиферации и дифференцировки, ангиогенеза и минерализации как при физиологической, так и репаративной регенерации костной и хрящевой ткани (TGF- $\beta$ , PDGF, IGF-I и IGF-II, FGF- $\alpha$ , FGF- $\beta$  и др.). На спектр и концентрацию этих факторов прямое влияние оказывают провоспалительные цитокины (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), регистрацию которых осуществляли у больных. Являясь маркерами воспаления, они оказывают и непосредственное влияние на регенерацию тканей, а также позволяют прогнозировать и контролировать стимулирующие процедуры (в частности, РМОГ и ЛОК), их сроки и режим. После реконструктивно-восстановительной операции больным проводили лечение препаратами гиалуроновой кислоты, игра-

ющими роль хондропротекторов, которые в условиях дисбаланса цитокиновой сети приводят к усилению биосинтеза коллагена в хондроцитах.

Одним из критериев физиологической реабилитации пациентов является оценка их психологического статуса, в соответствии с которым также определяют интенсивность и характер реабилитационных процедур. Выяснилось, что способность выполнять функциональные тесты зависит в большей мере от уверенности пациента в способности их выполнить, а также, в некоторой степени, от силы мышц, в то время как тревога и депрессия отрицательно влияли на функциональную активность.

Таким образом, предлагаемая комплексная программа реабилитации направленного действия с контролем цитокинов регионарной крови (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), оценкой психического состояния пациента, применением ранней кинезиотерапии оперированного сегмента и определенной схемой проведения РМОГ является программой выбора в реабилитации больных с костной и костно-суставной патологией кисти.

#### **ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕДСТВИЯМИ ГЕМАТОГЕННОГО ОСТЕОМИЕЛИТА В ПРОЦЕССЕ КОРРЕКЦИИ КОСТНЫХ ДЕФОРМАЦИЙ МЕТОДОМ ИЛИЗАРОВА**

**Кармацких О.Л., Данильченко Г.В.**

*ФГУН РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г.А. Илизарова» Росздрава*

Гематогенный остеомиелит, первично манифестирующийся в раннем детском возрасте, часто сопровождается развитием тяжелых ортопедических осложнений: укорочением и многоплоскостными деформациями длинных трубчатых костей, эбурнеацией костномозгового канала, анкилозами и дегенеративно-дистрофическими изменениями суставов. Единственным полноценным методом коррекции этих осложнений на протяжении многих лет признан метод управляемого чрескостного остеосинтеза. Но при этом, как правило, недостаточно уделяется внимания исследованию и коррекции иммунного статуса в целом, и гуморального его звена, в частности.

**Цель** настоящего исследования: изучить гуморальный иммунный статус пациентов с последствиями гематогенного остеомиелита в процессе коррекции костных деформаций методом Илизарова.

**Материалы и методы исследования.** Исследована периферическая кровь пациентов, подвергшихся хирургической коррекции костных деформаций длинных трубчатых костей скелета до и после лечения и в основные периоды остеосинтеза: дистракции и фиксации. Определяли концентрацию основных классов иммуноглобулинов А, М и G методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем производства НПО «Вектор-Бест» и циркулирующих иммунных комплексов методом осаждения с полиэтиленгликолем. Детекцию результатов исследования осуществляли на иммуноферментном анализаторе «Bio-Tek Instruments Inc.» с использованием программы КС4.

**Результаты.** Как и предполагалось, в периферической крови пациентов с последствиями гематогенного остеомиелита была обнаружена дисиммуноглобулинемия, свидетельствующая о наличии в организме очага хронической инфекции. При этом характер дисиммуноглобулинемии был различным: чаще отмечалась гипериммуноглобулинемия классов А и G, эпизодически – класса М. Тем не менее, средние значения изученных показателей для данной группы больных ( $n = 15$ ) были следующими: до операции отмечалась гипериммуноглобулинемия всех трех классов – IgA –  $3,56 \pm 0,7$  мг/мл, IgM –  $2,36 \pm 0,6$  мг/мл, IgG –  $19,33 \pm 4,8$  мг/мл. Уже в раннем периоде distraction (7-12 дней от начала distraction) концентрация всех иммуноглобулинов нормализовалась и эта тенденция сохранилась в периоде фиксации, за исключением IgA, концентрация которого оставалась незначительно повышенной до  $3,08 \pm 0,6$  мг/мл при верхней границе нормы  $2,8$  мг/мл. После демонтажа аппарата внешней фиксации изученные показатели оставались нормальными и составили: IgA –  $2,44 \pm 1,1$  мг/мл, IgM –  $1,5 \pm 0,1$  мг/мл, IgG –  $8,25 \pm 3,3$  мг/мл. Содержание циркулирующих иммунных комплексов в течение всего периода исследования оставалось нормальным и составило до операции  $73 \pm 27$  у.е., в периоде distraction  $69,3 \pm 6,8$  у.е., в периоде фиксации –  $52,14 \pm 7,6$  у.е., после лечения –  $50,3 \pm 10,1$  у.е.

**Заключение.** Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что исследование гуморального иммунного статуса имеет важное значение для оценки качества хирургического лечения больных с последствиями гематогенного остеомиелита, так как анамнестически очевидно наличие ранней бактериальной сенсibilизации, а в дооперационной иммуноглобулинограмме регистрируются маркеры очагов хронической инфекции – гипериммуноглобулинемия основных классов А, М и G. Восстановление нормальных значений концентрации иммуноглобулинов может непосредственно свидетельствовать в комплексе с другими методами исследования о полноценности коррекции костных деформаций и о санации очага хронической инфекции.

#### **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ КОНЕЧНОСТЕЙ И ГЕНИТАЛИЙ ПОСЛЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

**Карпов И.А., Васильев Ю.С.**

*Кафедра пластической хирургии и косметологии УГМАДО, НИИ иммунологии ЧелГМА, г. Челябинск, Россия*

Важнейшей медико-социальной проблемой является лечение больных со злокачественными новообразованиями конечностей и гениталий. В нашей стране, как и во всем мире, отмечается отчетливая тенденция к постоянному увеличению показателей заболеваемости и смертности от данной патологии, а также значительному снижению качества жизни больных в результате лечения.

**Целью** данного клинико-иммунологического исследования являлась оценка иммунного статуса больных

после выполнения реконструктивных операций у больных данной группы.

Основную группу в наших исследованиях составили 15 больных со злокачественными новообразованиями конечностей и гениталий, которым были выполнены радикальные оперативные вмешательства с одномоментным пластическим закрытием образовавшегося дефекта. Клинические особенности больных с данной патологией таковы, что даже при небольшой по размеру опухоли выполняются обширные блоковые резекции, в результате которых образуются большие тканевые изъяны. Локализация же их в области стопы или суставов лишь усложняет условия пластики. Средний возраст больных в исследуемой группе составил 55 лет. При верификации опухоли в 10 случаях была выявлена меланома различной степени инвазии по Кларку. Для пластического закрытия дефектов нами в 11 случаях использовался свободный лучевой лоскут. У двух больных с опухолью полового члена после радикального хирургического лечения для тотальной фаллопластики дополнительно использовался свободный торакодорзальный лоскут. По одному разу использовались пластика местными тканями и пластика свободным полнослойным кожным аутоотрансплантатом.

Иммунный статус больных оценивался на 2-3 сутки после операции и складывался из изучения клеточных и гуморальных факторов иммунитета. Содержание лейкоцитов было повышено, но без статистически значимой разницы с показателями здоровых доноров. Относительное и абсолютное количество лимфоцитов было достоверно снижено ( $p < 0,05$ ). Уже на 2-3 сутки послеоперационного периода было зафиксировано снижение таких ключевых субпопуляций, как CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток, а также иммунорегуляторного индекса ( $p < 0,02$ ). Количество CD10<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup>-, CD25<sup>+</sup>-, CD34<sup>+</sup>-, CD56<sup>+</sup>-, CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов, а также HLA-DR<sup>+</sup>-клеток находилось в пределах нормы, не отличаясь от показателей здоровых доноров. Гуморальное звено иммунитета отличалось большей устойчивостью. Содержание CD20-позитивных лимфоцитов, концентрация IgA, М и G находилось в пределах нормы у всех обследуемых пациентов. Абсолютное и относительное содержание нейтрофилов крови больных возрастало к 2-3 суткам послеоперационного периода. Однако нейтрофилез сопровождался достоверным снижением активности и интенсивности фагоцитоза клеток. Увеличение спонтанной и снижение индуцированной НСТ-редуцирующей активности нейтрофилов свидетельствовало о неспособности их отвечать на дополнительную стимуляцию образованием биоцидных факторов. Также достоверно сниженным оказался и функциональный резерв нейтрофилов ( $p < 0,05$ ). Лизосомальная активность нейтрофилов оставалась в пределах нормы.

Следовательно, уже на 2-3 сутки после выполнения реконструктивных операций у больных с опухолями конечностей и гениталий развивается структурно-функциональная недостаточность иммунной системы. Дисфункции системы иммунитета проявляются снижением ключевых субпопуляций лимфоцитов и функциональной активности нейтрофилов, что требует дальнейшего изучения и назначения препаратов иммуноориентированной терапии.

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДЕФОРМИРУЮЩЕГО ОСТЕОАРТРОЗА

Коктыш И.В.<sup>1</sup>, Маркевич О.В.<sup>1</sup>, Кривогуз А.А.<sup>2</sup>, Коктыш В.Т.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Международной государственной экологической университет им. А.Д. Сахарова

<sup>2</sup> ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии

<sup>3</sup> Дорожная больница на станции Минск БелЖД, г. Минск, Республика Беларусь

Одним из основных звеньев патогенеза деформирующего остеоартроза (ДОА) являются нарушения в процессах взаимодействия иммунокомпетентных клеток с фибробластами и хондроцитами хрящевой и остеобластами и остеокластами костной ткани, которые осуществляются при помощи иммуноактивных молекул, в частности цитокинов IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и др.

**Цель работы:** оценить состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета у пациентов с ДОА для выявления клинико-иммунологических маркеров данной патологии.

**Материалы и методы.** Исследована периферическая кровь (ПК) и синовиальная жидкость (СЖ) 15 больных с диагнозом ДОА коленного или тазобедренного сустава. Контрольную группу сравнения составили 10 здоровых доноров. Для оценки количественного состава субпопуляций лимфоцитов был использован метод лазерной проточной цитофлуориметрии с применением моноклональных антител (Caltag, USA). Определение концентрации IFN $\gamma$  и IL-4 в плазме проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Количественное определение сывороточных IgG, IgA и IgM проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Россия). Фагоцитарную активность в ПК и СЖ оценивали используя суточную культуру стафилококка. Статистическую обработку результатов проводили в пакете прикладных программ STATISTICA 6.0 с использованием непараметрических критериев.

**Результаты.** В результате проведенного исследования иммунного статуса было выявлено статистически достоверное снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>T-клеток ( $p = 0,038$ ) и CD19<sup>+</sup>B-клеток ( $p = 0,013$ ), снижение как абсолютного, так и относительного количества активированных лимфоцитов, несущих HLA-DR ( $p = 0,038$ ), в ПК пациентов с ДОА по сравнению с контрольной группой. А в СЖ обнаружено статистически значимое увеличение как общего числа лейкоцитов ( $p = 0,03$ ), так и нейтрофилов ( $p = 0,005$ ). Фагоцитарный показатель в ПК и СЖ и фагоцитарное число в ПК были достоверно повышены по сравнению с нормативными показателями ( $p = 0,002$ ;  $p = 0,001$  и  $p = 0,04$  соответственно). Обнаружено увеличение концентрации IFN $\gamma$  в ПК и СЖ в группе больных по сравнению с контрольной ( $p = 0,006$ ), что объясняется высокой активностью Th1-подтипа лимфоцитов, инфильтрирующих синовиальную оболочку в острой фазе, а также стимулирующим влиянием IL-7 и IL-18 на синтез IFN $\gamma$ . У всех пациентов с ДОА был обнаружен в СЖ IgM, который не присутствует у здоровых. Установленное снижение содержания общего IgG в ПК в группе больных ДОА по сравнению с контрольной ( $p = 0,025$ ) может являться результатом активного образования иммунных комплексов, связанного с постоянным высвобождением антигенов из разрушающегося хряща.

**Заключение.** При ДОА наблюдается сдвиг иммунных реакций в сторону Th1-зависимых, при которых наблюдается дисбаланс цитокинов. Выявленные в процессе исследования показатели изменения состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета у пациентов с ДОА предполагается возможным использовать в качестве диагностических маркеров при данной патологии, а также в качестве возможных подходов для разработки патогенетической терапии при данном заболевании.

## ВЛИЯНИЕ ВНУТРИВЕННОЙ ЛАЗЕРОТЕРАПИИ И ЦИТОКИНОТЕРАПИИ РОНКОЛЕЙКИНОМ НА СОДЕРЖАНИЕ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА И ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО ИММУННОГО КОМПЛЕКСА У БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

Косаев Дж.В.

НИИ Клинической медицины

им. акад. М.А. Топчибаева, г. Баку, Азербайджан

Иммунные нарушения поддерживают системное и местное воспаление в атеросклеротической бляшке с ее последующей дестабилизацией и развитием артериальной непроходимости. Эндотелиальные клетки играют фундаментальную роль в регуляции иммунореспонсивных реакций и большое внимание уделяется роли иммунологических маркеров дисфункции эндотелиоцитов в развитии атеросклероза. Последние годы появились сообщения о благоприятном воздействии ронколейкина (Р) и внутривенной лазеротерапии (ВЛТ) на клиническое течение и показатели гомеостаза у больных облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей [Косаев Дж.В., 2005, 2006; Косаев Дж.В., Гасанов И.А., 2005, 2006; Косаев Дж.В., Абышов Н.С., 2005, 2006; Косаев Дж.В. и соавт., 2005].

**Целью** настоящей работы явилось изучение влияния сочетанного применения ВЛТ и цитокиноterapiи Р на содержание фактора Виллебранда (ФВ) и циркулирующего иммунного комплекса (ЦИК) у больных облитерирующим атеросклерозом (ОА) с хронической критической ишемией нижних конечностей (ХКИНК).

**Материал и методы исследования.** В исследование включены 14 больных мужского пола с ОА в возрасте от 45 до 76 лет. Длительность заболевания от 2 до 13 лет. У больных определялась ишемия III-IV степени по классификации Фонтейна-Покровского (1979). Цитокинотерапия проводилась рекомбинантным препаратом интерлейкина-2 человека – Ронколейкином (номер государственной регистрации Р № 000122/01-2000; производство ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург). ВЛТ проводилась аппаратами «АЛОК-1» и «Мустанг-2000» (длина волны 0,63 мкм, мощность излучения – 5 мВт, экспозиция излучения – 30 мин, курс лечения – 10-12 сеансов). Ронколейкин вводили внутривенно дважды через 72 ч в дозе 0,5 мг (500 000 МЕ). Контрольную группу составили 34 больных, в комплексном лечении которых ВЛТ и Р не применялись. Возраст больных, продолжительность заболевания, уровень окклюзии артерий и сроки последнего обострения в основной и контрольной группах существенно не отличались.

Определение содержания ФВ и ЦИК проводилось при поступлении больных в клинику и по завершению лечения. Проводилось сравнение с показателями крови 17 практически здоровых лиц (группа сравнения).

**Результаты исследования.** Среднее значение концентрации ФВ в группе сравнения составило  $113,3 \pm 1,7\%$ , ЦИК –  $81,4 \pm 1,6\%$ . При поступлении в клинику в контрольной группе больных средний уровень ФВ составил  $131,2 \pm 1,2\%$ , а в основной группе  $131,8 \pm 0,4\%$  и был достоверно выше показателя практически здоровых лиц ( $p < 0,05$ ). Содержание ЦИК при поступлении больных в клинику составило  $114,5 \pm 1,8\%$  (контрольная группа) и  $113,9 \pm 1,6$  (основная группа) и было достоверно выше по сравнению с практически здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ). Высокие показатели ФВ и ЦИК отмечены у больных с недавним обострением заболевания и выраженной клиникой критической ишемии.

Проведение ВЛТ и цитокинотерапии Р наряду с улучшением клинического течения заболевания (уменьшение или полное прекращение ишемической боли, потепление конечности, увеличение дистанции безболевого ходьбы, стихание воспалительной реакции мягких тканей и др.), приводит к улучшению изучаемых биохимических показателей. Так как, если в контрольной группе отмечали лишь тенденцию к снижению ФВ ( $125,6 \pm 2,1\%$ ) и ЦИК ( $104,6 \pm 1,7$ ), то динамическое исследование показало, что в основной группе среднее значение ФВ снизилось до  $114,8 \pm 1,6\%$ , ЦИК – до  $83,8 \pm 1,6\%$ . Снижение уровня ФВ и ЦИК под влиянием ВЛТ и Р оказалось достоверным ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Уменьшение показателя ФВ и ЦИК свидетельствует об иммуномоделирующем, эндотелий-протекторном и противовоспалительном действиях ВЛТ и цитокинотерапии Р у больных с ХКИНК атеросклеротического генеза. Динамическое изучение уровня ФВ и ЦИК можно использовать как объективный критерий эффективности сочетанного применения ВЛТ и Р у этой категории пациентов.

#### **ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ И ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ТЕЧЕНИЕ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМ ТРОМБАНГИТОМ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

Косаев Дж.В., Абышов Н.С.

НИИ Клинической медицины им. М.А. Топчибашева,  
г. Баку, Азербайджан

Включение ронколейкина (Р) и лазерного облучения крови (ЛОК) в программу комплексного лечения

больных характеризуется быстрым детоксикационным и иммунокорректирующим действием и позволяет значительно повысить эффективность проводимой терапии усиливая процесс репарации и заживления раны, сокращая сроки госпитализации [Останин А.А. и соавт., 2002; Козлов В.К., 2002; Азизов Г.А., Козлов В.И., 2003; Косаев Дж.В., 2005, 2006]. Недостаточно изучены эффективность сочетанного применения Р и ЛОК в комплексном лечении больных облитерирующим тромбангитом (ОТ) и его влияние на медиаторы системной воспалительной реакции у этих больных.

**Цель:** изучить влияние цитокинотерапии Р и ЛОК на содержание медиаторов системной воспалительной реакции (СВР) у больных ОТ с хронической критической ишемией нижних конечностей (ХКИНК).

**Материалы и методы.** Цитокинотерапия проводилась рекомбинантным препаратом интерлейкина-2 человека – Ронколейкином (номер государственной регистрации Р № 000122/01-2000; производство ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург). Ронколейкин вводили внутривенно дважды через 72 ч в дозе 0,5 мг (500000 МЕ). ЛОК проводилось аппаратами «АЛОК-1» и «Мустанг-2000» (длина волны 0,63 мкм, мощность излучения – 5 мВт, экспозиция излучения – 30 мин, курс лечения – 10-12 сеансов). Р и ЛОК использованы в комплексном лечении 12 больных (основная группа) ОТ с ХКИНК в возрасте от 26 до 47 лет. Контрольную группу составили 22 больных ОТ с аналогичной ишемией конечности, в комплексном лечении которых Р и ЛОК не были применены. Возраст больных, продолжительность заболевания, уровень окклюзии артерий и сроки последнего обострения в основной и контрольной группах существенно не отличались. Группу сравнения составили 14 практически здоровых лиц. Исследовано содержание серомукоидов (СМ), сиаловой кислоты (СК), С-реактивного белка (СРБ) и циркулирующего иммунного комплекса (ЦИК) в периферической крови при обращении больных в клинику и по завершению курса лечения.

Результаты исследования: содержание воспалительных медиаторов у практически здоровых лиц и у больных контрольной и основной групп до и после лечения приведено в таблице.

При поступлении в клинику у больных основной и контрольной групп, в отличие от здоровых лиц, выявлено выраженное увеличение содержания СРБ, СМ, СК и ЦИК. В контрольной группе отмечалось лишь умеренное снижение ( $p > 0,1$ ) уровня СРБ, СМ и СК. Включение Р и ЛОК в комплексное лечение больных ОТ приводит к достоверному снижению ( $p < 0,05$ ) вос-

**ТАБЛИЦА. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕДИАТОРОВ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ**

(к работе Косаева Дж.В. и Абышова Н.С.)

Воспалительные медиаторы	Группа больных	Группа сравнения (n = 14)	Контрольная группа (n = 22)		Основная группа (n = 12)	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Серомукоиды (ед.)		$223,6 \pm 4,8$	$286,4 \pm 4,7$	$267,9 \pm 4,3$	$297,6 \pm 3,1$	$236,2 \pm 2,8$
Сиаловые кислоты (ед.)		$221,8 \pm 3,6$	$291,2 \pm 5,1$	$273,7 \pm 5,2$	$293,2 \pm 3,7$	$234,9 \pm 4,2$
Циркулирующий иммунный комплекс (%)		$78,3 \pm 3,2$	$116,7 \pm 3,9$	$109,4 \pm 3,1$	$121,7 \pm 3,8$	$85,4 \pm 3,7$
С-реактивный белок		Отриц.	у 20 б-х положит.	у 17 б-х положит.	у 11 б-х положит.	у 2 б-х положит.

палительных медиаторов по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, включение цитокинотерапии Р и ЛОК у больных ОТ с ХКИНК является патогенетически обоснованным, так как снижает уровень медиаторов СВР, корректирует иммунную систему, что, по нашему мнению, приводит к стиханию воспалительного процесса и улучшению клинического течения заболевания. Динамика содержания медиаторов СВР является объективной критерией эффективности применения Р и ЛОК у больных ОТ с ХКИНК.

## ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМ СЕПСИСОМ

**Кувайцев М.В., Квятковская С.В., Зурочка А.В., Котляров А.Н., Дворчик Е.Е., Шестакова Е.В., Гордечный П.П.**

*Челябинская государственная медицинская академия, г. Челябинск; НП Медицинский лабораторный центр «Familia», г. Челябинск*

**Целью** настоящего исследования стала оценка состояния иммунной системы детей с тяжелым сепсисом (по классификации ACCP/SCCM 1992 г.).

Диагноз сепсиса был верифицирован в соответствии с рекомендациями Чикагской согласительной конференции. У всех пациентов проводили общий анализ крови на аппарате «Celltac α» (Nihon Kohden, Japan). Нами были исследованы процентное и абсолютное содержание следующих популяций и субпопуляций лейкоцитов: Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>), В-лимфоциты (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>), лимфоциты (CD45<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>), Т-хелперы (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>), Т-цитотоксические (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), Т-НК-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), НК-лимфоциты (CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), лимфоциты с маркерами поздней активации (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>), моноциты и гранулоциты с маркерами HLA-DR<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>. Исследование проводилось методом прямой иммунофлюоресценции с помощью двойной или тройной метки моноклональными антителами фирмы Beckman Coulter (USA) (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>), лизис осуществляли ручным методом раствором «OptiLyse C» (Beckman Coulter, USA). Детекцию флюоресценции осуществляли с применением проточной цитометрии на аппарате FC-500 (Beckman Coulter, USA). Функциональное состояние нейтрофилов оценивали по активности фагоцитоза частиц полистирольного латекса и продукции свободных форм кислорода в НСТ-тесте. Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по содержанию в сыворотке иммуноглобулинов А, М и G, а также фрагментов компонента C1ing, C3a, C5a методом ИФА.

Было обследовано 10 детей (средний возраст 5,80±2,31 лет) с диагнозом «сепсис». Изучение общего анализа крови выявило наличие лейкоцитоза 16,22±1,97 x 10<sup>9</sup> кл/л. При этом отмечено повышение содержания палочкоядерных форм нейтрофилов до 10,00±1,79%. Кроме этого, было зарегистрировано развитие анемии (количество эритроцитов – 3,79±0,20 x 10<sup>12</sup> кл/л, гемоглобин – 88,90±5,58 г/л, гематокрит – 27,69±1,53%) и тромбоцитоза –

695,80±111,46 x 10<sup>9</sup> кл/л. Характеризуя состояние гуморального иммунитета можно констатировать усиление продукции IgM, IgG и всех трех оцениваемых фрагментов системы комплемента. Также наблюдается усиление спонтанной и индуцированной латексом кислородпродуцирующей функции нейтрофилов.

Оценка субпопуляций лимфоцитов периферической крови выявила повышение абсолютного содержания В-лимфоцитов (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>) и Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>) за счет Th-клеток (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>). В популяции НК-клеток наблюдались неоднозначные изменения: снижение процентного содержания Т-НК- (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) и НК-лимфоцитов (CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) при повышении абсолютного количества НК-лимфоцитов. Снизилось также относительное количество лимфоцитов, несущих маркеры поздней активации (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) до 3,26±0,73%.

Уровень CD45<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>-лимфоцитов составил 98,89±0,53% (5123,19±1061,49 кл/мкл).

Было определено снижение экспрессии на моноцитах HLA-DR<sup>+</sup>-рецепторов до 33,66±8,85% и CD14<sup>+</sup>-рецепторов до 81,66±3,04%.

Таким образом, в начале развития септического состояния мы наблюдаем активацию гуморального звена иммунной системы на фоне формирующегося ДВСК-синдрома и анемии. При этом имеется угнетение поздней активации мононуклеарных лейкоцитов, что может рассматриваться как один из механизмов формирования и прогрессирования септического состояния.

## ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ С СУСТАВНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

**Кузнецова Е.И., Розова Л.В., Науменко З.С.**

*ФГУН «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Росздрава, г. Курган, Россия*

При проведении тотального эндопротезирования, являющегося методом выбора при лечении поздних стадий остеоартроза, наличие измененного иммунологического фона создает предпосылки для развития вторичной иммунодепрессии и развитию послеоперационных осложнений [Бердюгина, 2000]. Бактерицидная активность сыворотки крови и фагоцитарная активность нейтрофилов относятся к факторам неспецифической резистентности организма, которые являются первой линией защиты от проникновения инфекционных агентов.

**Цель** настоящей работы: исследование фагоцитарной активности нейтрофилов и бактерицидной активности сыворотки крови у пациентов с заболеваниями крупных суставов нижних конечностей.

**Материалы и методы.** В качестве материала исследования использовали кровь больных, которым была проведена операция по эндопротезированию крупных суставов нижних конечностей. Для контроля была обследована группа из 20 человек без суставной патологии. Забор крови осуществлялся в дооперационном

периоде, на 7-14-е сутки, через 1 месяц и 1 год после операции. Лабораторно-иммунологическое исследование включало подсчет количества нейтрофилов, вступивших в реакцию фагоцитоза (фагоцитарный показатель (ФП), среднего количества микробных клеток (*Staphylococcus epidermidis*, штамм № 9198 НИИЭМ), поглощенных одним фагоцитом (фагоцитарное число (ФЧ)), а также показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ) и бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК). Оценка бактерицидной активности сыворотки крови проведена по стандартной методике О.В. Бухарина и В.А. Созыкина (1983) с незначительными модификациями, основанной на нефелометрическом установлении степени задержки роста стандартной бактериальной суспензии под влиянием бактерицидных факторов испытуемой сыворотки по отношению к контролю, содержащему бактериальную взвесь без сыворотки.

Результаты исследований показали, что БАСК контрольной группы составляла от 87,6 до 98,0% (в среднем  $92,8 \pm 1,0\%$ ), ФП варьировала от 65% до 90% (в среднем  $82,8 \pm 1,4\%$ ), ФЧ соответственно колебалось от 11 до 16 (в среднем  $13 \pm 0,4$ ) микробных клеток на один фагоцит. Переваривающая способность клеток составляла  $47 \pm 2,6\%$ . При поступлении на лечение показатели фагоцитоза пациентов с суставной патологией были несколько ниже контрольных значений (ФП –  $77,5 \pm 2,4\%$ ; ФЧ –  $11,4 \pm 0,8$ ). Переваривающая способность нейтрофилов практически не отличалась от контрольных значений. Показатели БАСК были в пределах 88,9–97,4% (в среднем  $93,5 \pm 0,5\%$ ). На этапе 7-14 дней после оперативного вмешательства зарегистрировано повышение фагоцитарной активности нейтрофилов, средние значения в этот период составили: ФП –  $82,8 \pm 3,1\%$ ; ФЧ –  $13,4 \pm 0,9$ . Несколько повысился ПЗФ ( $51,1 \pm 3,8\%$ ). Через мес после эндопротезирования у больных были зафиксированы статистически значимые изменения ( $p < 0,01$ ) активности нейтрофилов по сравнению с дооперационным уровнем, возросли значения ФЧ ( $87,6 \pm 2,6$ ) и ФП ( $14,6 \pm 0,8$ ), значения ПЗФ снижались ( $44,5 \pm 4,2$ ). При определении значений БАСК на 7-14 сутки и через 1 месяц после оперативного вмешательства выраженных изменений показателей не наблюдалось, средние значения соответствовали  $93,6 \pm 0,5\%$  и  $91,4 \pm 1,6\%$ . Достоверное понижение показателей БАСК у пациентов было зафиксировано через год и более после операции ( $p < 0,01$ ) и составили в среднем  $84,1 \pm 2,8\%$ . Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (ФП и ФЧ) имели тенденцию к понижению и достигли контрольных значений ( $81,5 \pm 3,7\%$  и  $12,3 \pm 0,4$  соответственно).

Таким образом, БАСК у обследованных больных в дооперационном периоде и на исследованных этапах лечения существенно не отличается от показателей контрольной группы. Через год и более после эндопротезирования отмечено достоверное снижение БАСК. Анализ полученных данных по исследованию фагоцитарной активности нейтрофилов выявил динамические изменения на всех этапах лечения. Статистически значимое повышение показателей фагоцитоза регистрировалось через один мес. после оперативного вмешательства.

## ПРИНЦИПЫ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ

**Лабис В.В., Базикян Э.А., Царев В.Н.**

*Московский медико-стоматологический университет, Москва, Россия*

**Введение.** Проблема осложнений в хирургической практике, в большей части, связана с эмпирическим подходом при назначении медикаментозной терапии, без учета особенностей иммунологического статуса пациента. В связи с этим, наши исследования были посвящены изучению иммунологического профиля цитокинов сыворотки венозной крови: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF $\alpha$ , а так же микробиологического статуса пациентов до и после операций, для того чтобы в последующем использовать полученную информацию для разработки новых схем медикаментозной терапии направленного действия.

**Цель:** оптимизация медикаментозной терапии при плановых стоматологических амбулаторных хирургических вмешательствах.

### Задачи исследования:

- 1) Изучить микробиологический и иммунологический профили пациентов до и после проведения стоматологических амбулаторных хирургических вмешательств.
- 2) Выявить взаимосвязь выраженности клинических признаков воспалительного процесса с сывороточным уровнем цитокинов венозной крови у пациентов группы сравнения и контроля.
- 3) Базируясь на клинических, микробиологических и иммунологических данных разработать схему комбинированной профилактической антибактериальной и противовоспалительной терапии направленного действия.
- 4) Оценить эффективность применения профилактической антибактериальной и противовоспалительной терапии направленного действия у пациентов с амбулаторными стоматологическими вмешательствами.

**Материалы и методы.** Обследовано 80 пациентов обоих полов (42 женщины и 38 мужчин), в возрасте от 20 до 57 лет.

### Основные результаты.

1) Проведенные клинико-лабораторные исследования доказали возможность применения сывороточных цитокинов, а именно: (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4), – в качестве прогностических критериев и, следовательно, использовать их для проведения превентивной, индивидуальной медикаментозной терапии.

2) Исследования по изучению сывороточных цитокинов IL-6 и TNF $\alpha$  доказали, что данные цитокины не могут применяться в качестве прогностических критериев при проведении плановых амбулаторных стоматологических операций, так как их изменения всегда носили несущественный характер.

3) У 75% обследованных пациентов, нуждающихся в проведении плановых амбулаторных хирургических вмешательств, выявлен повышенный уровень сывороточного IL-1 $\beta$ , что указывает на наличие скрытого воспалительного процесса еще до проведения оперативных вмешательств.



4) Назначение превентивной антибактериальной и противовоспалительной терапии направленного действия, на фоне изучения титра сывороточных цитокинов, характеризуется ранним купированием посттравматического воспалительного ответа в послеоперационном периоде, и может служить успешной профилактикой осложнений при проведении амбулаторных хирургических вмешательств.

**Заключение.** Результаты статистического анализа результатов микробиологических исследований, проведенных до, на 3-и и 7-е сутки после выполнения амбулаторных хирургических вмешательств, указывают на высокую эффективность профилактической антибактериальной и противовоспалительной терапии направленного действия по сравнению со стандартной терапией, проводившейся в группе контроля.

### ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ ОСТРОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ С СИНДРОМОМ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА

Макаров А.И.

Северный государственный медицинский университет,  
г. Архангельск, Россия

**Введение.** Согласно современным представлениям направленность системного ответа на локальное воспаление, инициированного медиаторами воспаления, зависит преимущественно от характера взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов [Останин А.А. и соавт., 2002-2004; Черешнев В.А. и соавт., 2002-2004; Bone R. et al., 1991].

**Целью** исследования явилось изучение баланса между про- и противовоспалительными цитокинами в сыворотке крови больных с острой абдоминальной инфекцией, манифестирующей ССВО.

**Материалы и методы.** Обследованы 32 пациента с острой абдоминальной патологией. Средний возраст больных составил 47,4 года. ССВО диагностирован у всех больных при наличии не менее трех основных клинико-лабораторных критериев по рекомендациям РАСХИ. Методом ИФА определяли содержание в сыворотке крови провоспалительные (ФНО $\alpha$ , ИЛ-6) и противовоспалительные (ИЛ-10, растворимый рецептор ФНО $\alpha$  – ФНО $\alpha$ -pR) цитокины до операции и после операции на 1-3, 4-7 и позднее 7 суток.

Результаты исследования показали, что до операции концентрация ИЛ-6 равнялась  $196,55 \pm 26,07$  пг/мл, что достоверно ( $p < 0,001$ ) выше аналогичного показателя у больных с местным интраабдоминальным воспалением ( $76,81 \pm 12,01$  пг/мл) и в контрольной группе ( $12,31 \pm 0,59$  пг/мл). Уровень ФНО $\alpha$  у больных с ССВО был выше, чем в контрольной группе ( $21,50 \pm 3,77$  пг/мл и  $10,90 \pm 0,50$  пг/мл, соответственно), но не имел достоверных различий с показателями при местном воспалении (МВ). Концентрация ФНО $\alpha$ -pR составила  $12,18 \pm 2,03$  нг/мл, что почти в 6 раз выше, чем в контрольной группе, и в 2 раза выше, чем при МВ ( $5,99 \pm 1,11$  нг/мл). Отмечена высокая концентрация ИЛ-10 у больных с ССВО  $6,06 \pm 2,25$  пг/мл по сравнению с контрольной группой ( $5,70 \pm 0,26$  пг/мл,  $p < 0,1$ ) и больными с МВ ( $3,09 \pm 0,39$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). При благо-

приятном исходе заболевания (23 больных) концентрации цитокинов в течение первой недели после операции имели выраженную тенденцию к уменьшению. У 9 больных с летальным исходом в раннем послеоперационном периоде мы отметили аномально высокие концентрации ИЛ-6 ( $236,76 \pm 40,68$  пг/мл) и нарастающие концентрации ФНО $\alpha$  ( $30,46 \pm 12,06$  пг/мл). Уровень ФНО $\alpha$ -pR был многократно выше контрольных значений и достоверно выше, чем у выживших больных. Напротив, концентрация ИЛ-10 как до операции, так и в послеоперационном периоде была достоверно ниже, чем у выживших больных и соответствующих контрольных значений.

**Заключение.** У больных при остром интраабдоминальном воспалении с ССВО изменения цитокинового профиля характеризуются, прежде всего, высокими концентрациями ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ . После операции при положительной динамике заболевания концентрация и про- и противовоспалительных цитокинов уменьшается. В случаях с летальным исходом высокая активность провоспалительных цитокинов сопровождается низкими концентрациями ИЛ-10.

### КОЭФФИЦИЕНТ ВОСПАЛЕНИЯ КАК КРИТЕРИЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРИ ОТКРЫТЫХ ПЕРЕЛОМАХ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

Мироманов А.М., Намоконов Е.В., Хышиктуев Б.С., Герасимов А.А., Коновалов П.П., Мироманова Н.А.

Читинская государственная медицинская академия,  
г. Чита, Россия

Прогнозирование иммунопатологических состояний, сопровождающих гнойно-воспалительные процессы и их коррекция, является важным направлением клинической медицины. Рассматривая гнойно-воспалительные осложнения открытых переломов с позиций патогенеза, как следствие тканевой гипоксии и иммунодепрессии, корректно предположить в качестве критериев их прогнозирования показатели системы «ПОЛ-антиоксиданты» и иммунного статуса.

**Цель исследования:** оценить изменение уровня интерлейкинов сыворотки крови и показателей системы «ПОЛ-антиоксиданты» у больных с открытыми переломами длинных трубчатых костей в плане прогнозирования и иммунокоррекции гнойно-воспалительных осложнений.

**Материалы и методы.** Мы располагаем опытом лечения 90 пациентов с открытыми переломами длинных трубчатых костей. Определение уровня интерлейкинов – IL-1 $\alpha$ , IL-4 в сыворотке крови больных проводилось методом твердофазного ИФА по стандартной методике с использованием тест-систем (ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург). Конъюгированные диеновые структуры (ДК) измеряли по методу, предложенному И.А. Волчегорским и соавт. (1989). Определение общей антиоксидантной активности (АОА) проводили по методике М.Ш. Промыслова (1990). Исследования проводились у больных при поступлении в стационар, в последующем на вторые, пятые, десятые сутки наблюдения и при выписке.

**Результаты.** На основании полученных данных нами предложен способ прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений при лечении открытых переломов

длинных трубчатых костей (патент РФ № 2285925), основанный на расчете отношения количества популяций ДК и IL-1 $\alpha$  ( $P_1 \times P_2$ ), к АОА и IL-4 ( $P_3 \times P_4$ ) по отношению к аналогичным показателям здоровых людей. После чего производили расчет коэффициента (К) – путем отношения произведения показателей содержания ДК и IL-1 $\alpha$  к произведению показателей АОА и IL-4. При коэффициенте меньше 2,5 прогнозировали благоприятное течение раневого процесса. Если коэффициент больше 2,5, то прогнозировали развитие местных воспалительных осложнений. При использовании данного коэффициента выявлена группа пациентов ( $n = 30$ ) с риском развития гнойных осложнений. В данной группе на фоне комплексной терапии применяли иммуномодулятор вилон. Результаты применения вилон при открытых переломах длинных трубчатых костей подтверждают, что иммуномодулятор приводит к стабилизации иммунной системы и системы «ПОЛ–антиоксиданты». Доказательством эффективности такого лечения являются хорошие клинические показатели, указывающие на быстрое заживление ран и отсутствие воспалительных осложнений.

**Заключение.** Расчет прогностического коэффициента и использование в комплексной терапии иммуномодулятора вилон при открытых переломах длинных трубчатых костей позволяет значительно снизить риск развития гнойно-воспалительных осложнений.

#### АНТИТЕЛА ПРОТИВ АНТИГЕНОВ HLA КЛАССА I И КЛАССА II У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕЦИПИЕНТОВ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ

**Морозова В.В., Баранова Ф.С., Таранов В.А., Абрамов В.Ю.**

*ФГУ НИИ трансплантологии и искусственных органов Росздрава, Москва, Россия*

Сенсибилизация к антигенам HLA может произойти при переливании крови, беременности и аллотрансплантации. По данным литературы, сенсибилизированные пациенты имеют меньше шансов на трансплантацию, а если пересадка все же выполняется, продолжительность сохранения функции трансплантата низка. В последние годы разработаны более чувствительные, по сравнению с традиционным цитотоксическим тестом, методы выявления HLA антител, а именно твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА) и метод проточной цитоспектрофлюориметрии.

**Целью** исследования было определение содержания антител против антигенов HLA класса I и класса II в сыворотке крови потенциальных реципиентов трупной почки. Была исследована сыворотка крови пациентов, ожидаю-

щих первой трансплантации – РецI ( $n = 47$ ) и повторной трансплантации – РецII ( $n = 23$ ).

Для выявления антител против антигенов HLA класса I и класса II (DR1-18, DR51, DR52, DR53) применяли метод ТИФА в микропланшетах с использованием, соответственно, наборов ABSscreen class I и ABSscreen class II (Biotest, Германия). Указанные тест-системы выявляют иммуноглобулины класса G (IgG) человека. Исследование проводили в соответствии с инструкцией производителя. Величину оптической плотности содержимого лунки измеряли на волне длиной 405 нм. Результатом считали среднее значение величин оптической плотности в дублированных пробах. Положительными считали пробы с величиной оптической плотности, превышающей среднее значение величины оптической плотности отрицательного контроля в 2,5 раза. Исследования выполняли на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР-2000 (Behringwerke, Германия).

Результаты исследования представлены в таблице.

Различия между группами Рец I и РецII оценивали по точному критерию Фишера ( $p < 1 \times 10^{-6}$ ).

У реципиентов, ожидающих первую трансплантацию, HLA-антитела обнаружены в 28% случаев, тогда как у ожидающих повторную трансплантацию в 87% случаев.

В сыворотке крови 56% реципиентов, ожидающих повторную трансплантацию, одновременно присутствовали антитела против антигенов HLA класса I и II, тогда как всего 6% больных, ожидающих первую трансплантацию, были сенсибилизированы одновременно против HLA класса I и II.

Реципиенты, ожидающие первую и повторную трансплантацию почки, коренным образом различаются по характеру HLA-сенсибилизации. Наше исследование подтвердило, что при повторной пересадке для сохранения функции трансплантата следует подбирать донорскую почку с максимальной степенью совместимости по антигенам HLA.

#### ЭКСПРЕССИЯ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ФОРМ МРНК CD95-АНТИГЕНА ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ

**Уткин О.В.<sup>1</sup>, Лебедев М.Ю.<sup>2</sup>, Новиков В.В.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского*

*<sup>2</sup>Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии*

В настоящее время выделяют несколько путей развития эффекторной фазы апоптоза, принципиальное отличие которых заключается в механизме инициации и трансдукции апоптотического сигнала. Одним из ре-

**ТАБЛИЦА. HLA-АНТИТЕЛА У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РЕЦИПИЕНТОВ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ**

(к работе Морозовой В.В. и соавт.)

	Антитела против HLA класса I и класса II, в % (n)				Всего
	I+/II+	I+/II-	I-/II+	I-/II-	
РецI	6% (3)	17% (8)	5% (2)	72% (34)	100% (47)
РецII	56% (13)	22% (5)	9% (2)	13% (3)	100% (23)

цепторов, инициирующих программируемую клеточную гибель, является CD95 (Fas/Apo-1), участвующий в передаче сигналов клеточной смерти после взаимодействия с лигандом.

В работе использовали мононуклеарные клетки и образцы сыворотки крови 74 здоровых индивидов и 116 образцов крови пациентов с тяжелой ожоговой травмой, предоставленные НИИ травматологии и ортопедии г. Ниж. Новгорода.

Сравнительный анализ спектра форм мРНК CD95 антигена и их содержания в клетках периферической крови проводили с помощью методов ОТ-ПЦР и ПЦР в реальном времени. Суммарную фракцию растворимого CD95 антигена определяли с помощью меченых пероксидазой хрена моноклональных антител (МКА) ИКО-160 и поликлональных антител против мононуклеарных клеток периферической крови человека. Олигомерную фракцию растворимого CD95 антигена определяли с использованием в качестве первых антител очищенные МКА ИКО-160. В качестве вторых антител применяли МКА ИКО-160, меченные пероксидазой хрена. Относительное число CD95-положительных клеток определяли с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции с использованием ФИТЦ-конъюгированных МКА ИКО-160.

Обнаружено снижение экспрессии мРНК минорных альтернативных форм CD95 антигена в клетках периферической крови пациентов с ожоговой травмой по сравнению со здоровыми индивидами. Пациенты с ожоговой травмой экспрессируют либо один вариант мРНК (FasExo3,4,6Del), либо три варианта мРНК исследуемой молекулы с делециями 4; 4,6 и 3,4,6 экзон. У 16 из 19 пациентов, которые в конечном итоге умерли, наблюдалась экспрессия трех минорных форм изучаемого антигена.

Статистически достоверных различий между уровнями экспрессии мРНК mFas и FasTMDel у обожженных и контрольной группой выявить не удалось на протяжении всего времени исследования. При анализе различных групп пострадавших в зависимости от исходов ожоговой болезни было установлено, что у пациентов, которые впоследствии погибли, наблюдалось достоверное снижение средних значений разницы значимых циклов амплификации (РЗЦА) соответствующих мРНК на первые и третьи сутки как по сравнению с группой выживших, так и по сравнению с контролем.

Соотнесение характера и уровня экспрессии мРНК альтернативных форм CD95 антигена с его содержанием в сыворотке крови и количеством Fas-положительных клеток показало, что у пациентов с ожоговой травмой, мононуклеарные клетки которых экспрессировали единственную минорную форму мРНК Fas-антигена, наблюдалось достоверное снижение относительного числа CD95-положительных клеток по сравнению с контролем. Подобная закономерность наблюдалась на первые, третьи и пятые сутки с момента получения ожоговой травмы. В группе пациентов, мононуклеарные клетки которых экспрессировали три альтернативные формы мРНК Fas-антигена относительное содержание CD95-положительных клеток было снижено не достоверно по сравнению с контрольными значениями, но имело выраженную тенденцию к уменьшению. При этом аб-

солютное содержание CD95-положительных лимфоцитов достоверно не отличалось у лиц, экспрессирующих одну или три минорные альтернативные формы мРНК Fas-антигена, но было статистически достоверно ниже нормы. У больных, которые экспрессировали мРНК FasExo3,4,6Del формы сывороточный уровень олигомерной фракции растворимого Fas-антигена был статистически достоверно снижен в 1,7 раза по сравнению с контролем уже в первые сутки с момента получения травмы и оставался пониженным на всем протяжении исследования. У пациентов, экспрессирующих три альтернативные формы мРНК растворимого Fas-антигена (FasExo4Del; FasExo4,6Del и FasExo3,4,6Del), содержание олигомерной фракции сохранялось в пределах нормы или имело некоторую тенденцию к увеличению. При этом в обеих группах пациентов не наблюдалось достоверных различий в сывороточном содержании суммарной фракции растворимого CD95 антигена как по сравнению с контролем, так и в сравнении друг с другом.

#### **РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В РАЗВИТИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ АНЕМИИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА**

**Чечёткин А.В., Хубулава Г.Г., Данильченко В.В.,  
Рыжкова Т.В., Руденко Н.Г.**  
*Российская Военно-медицинская академия,  
Санкт-Петербург, Россия*

Значимым фактором развития послеоперационной анемии (ПА) при хирургическом лечении инфекционного эндокардита (ИЭ), наряду с операционной кровопотерей, считают иммунологически опосредованное нарушение эритропоэза. Воспалительные цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и др.) могут оказывать ингибирующее действие на эритроидные клетки, снижая чувствительность клоногенных эритробластных предшественников к эритропоэтину.

**Цель работы:** изучение влияния воспалительного фактора на развитие послеоперационной анемии при хирургическом лечении ИЭ.

**Материал и методы.** проведено ретроспективное исследование результатов кардиохирургического лечения 60 больных ИЭ в возрасте 38,6 $\pm$ 12,8 лет. О влиянии воспаления на развитие ПА судили по уровню провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в периферической крови. В зависимости от интенсивности системной воспалительной реакции все больные были разделены на 2 группы. В 1 (контрольную) группу вошли 35 больных в иммуновоспалительной фазе ИЭ, во 2-ю 25 больных в септической фазе ИЭ. Структура групп по виду поражения клапанного аппарата сердца, тяжести нарушений функции системы кровообращения была примерно одинакова. Группы больных не отличались по демографическим показателям, наличию сопутствующих заболеваний и сопутствующему лечению. Больных обследовали до операции и на 1 и 5 сутки после операции. Содержание цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в сыворотке крови больных определяли иммуноферментным методом. Для оценки эритропоэза у 15 пациентов исследовали образцы костного мозга, полученные пункцией подвздошной кости во время вводного наркоза.

**Результаты.** У больных 2 группы до операции содержание гемоглобина (Hb) и эритроцитов (ЭР) было достоверно ниже, чем в 1 группе; а концентрация ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, наоборот, значительно превышала показатели контрольной группы. После операции у больных 2 группы выявлено снижение Hb и повышение уровня ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 – на 1 и 5 сутки в сравнении с контролем. У больных двух групп обнаружено достоверное снижение содержания нормоцитов и эритроидных клеток в костном мозге. У 2 группы число базофильных нормоцитов было снижено в 2,7 раза, полихроматофильных нормоцитов – в 4 раза, количество эритроидных клеток – в 1,6 раза в сравнении с 1 группой. Индекс созревания эритробластов в двух группах примерно соответствовал нормальному уровню. При анализе взаимосвязи тяжести анемии с иммуновоспалительным фактором патогенеза ИЭ ус-

тановлено, что содержание Hb у больных после хирургического вмешательства имело отрицательную обратную связь с концентрацией ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6. Коэффициент корреляции между концентрацией Hb в первые сутки после операции и предоперационным уровнем ИЛ-6 составил  $r = -0,64$ ;  $p < 0,05$ , с концентрацией ИЛ-1 $\beta$  –  $r = -0,44$ ;  $p < 0,05$ , с концентрацией ИЛ-6 в первые сутки после операции –  $r = -0,47$ ;  $p < 0,05$ . В дальнейшем корреляционная связь между содержанием гемоглобина и концентрацией ИЛ-6 составляла в третьи сутки после операции на уровне  $r = -0,51$ ;  $p < 0,05$ , на пятые сутки –  $r = -0,41$ ;  $p < 0,05$ .

**Вывод.** Важным механизмом развития послеоперационной анемии при кардиохирургических операциях у больных ИЭ является повышение продукции цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6.