

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗАМЕДЛЕННОГО ОСТЕОГЕНЕЗА

Бердюгина О.В.

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава
ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1» МЗ СО, г. Екатеринбург

Резюме. Клинико-иммунологические исследования проведены у пациентов с повреждением лицевого скелета до и после стабильного остеосинтеза нижней челюсти. Установлено, что сменяющиеся стадии регенерации костной ткани (воспаление, пролиферация остеобластов, коллагеногенез и оссификация) сопровождаются изменениями иммунологических параметров. У больных с замедленной консолидацией до операции было понижено количество моноцитов, уровень лактоферрина. Послеоперационный период характеризовался активацией лейкопоэза, увеличением уровня IgM и TNF α . На основании проведенного исследования были разработаны критерии прогнозирования замедленной консолидации костной ткани в лечении повреждений нижней челюсти. Они позволяют на разных этапах лечения (до операции, на 3 или 10 сутки после операции) прогнозировать развитие осложнения. Для каждого из них по унифицированным формулам рассчитана диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность и информативность тестов, то есть способность предсказать возможное развитие замедленной консолидации костной ткани.

Ключевые слова: иммунологический мониторинг, остеогенез, прогнозирование.

Berdugina O.V.

IMMUNOLOGICAL MONITORING OF SLOW DOWN OSTHOGENESIS

Abstract. We have performed clinical and immunological investigation in the patients with trauma of face bones before and after stable mandibular osteosynthesis. Blood samples for analysis were taken upon admission of the patient to clinics, and following treatment (3, 10, and 1-2 months). The patients with initially retarded bone consolidation exhibited low levels of monocytes and lactoferrine before surgical treatment. It was shown that the consecutive stages of bone regeneration (inflammation, osteoblastic proliferation, collagenogenesis, and ossification) are accompanied by certain changes in immune parameters. In particular, we observed increased levels of IgM, TNF, and activation of leucopoiesis after treatment. The results obtained allow us of discriminating some natural reactions of immune system in cases of normal and retarded bone consolidation. For each of these criteria, diagnostic sensitivity and informativity of tests are calculated, thus providing an opportunity to predict retarded consolidation in surgical treatment of the face bones. (*Med. Immunol., 2007, vol. 10, N 4-5, pp 371-388*)

Введение

В условиях травмы регуляция остеогенеза осуществляется сложным комплексом факторов, включающим влияние нейроэндокринной, сосудистой систем, созданием механиче-

ских условий для формирования полноценного регенерата, а также действием метаболитов и ростовых факторов [17]. В процессе восстановления поврежденной костной ткани отмечаются закономерные изменения реакций крови, среди которых наиболее выраженная динамика характерна для показателей иммунного статуса. После тяжелой механической травмы наблюдаются глубокие нарушения клеточного звена иммунитета в виде угнетения экспрессии CD2-DR⁺ рецепторов и снижения абсолютного количества клеток с фенотипами

Адрес для переписки:

Бердюгина Ольга Викторовна
620131, г. Екатеринбург, ул. Татищева, 77,
кв. 310.
Тел.: (343) 240-37-98.
E-mail: berolga73@rambler.ru

CD4⁺ и CD8⁺ [2]. Нейтрофилы, не играя ключевой роли на этапе репарации, вместе с тем, оказывают влияние на коллагеноз и ремоделирование внеклеточного матрикса путем продукции факторов, активирующих фибробласты [1]. Лактоферрин, являющийся важным регулятором деятельности остеоцитов, увеличивает формирование кости *in vivo* [18]. Метаболизм костной ткани при повреждении обеспечивают многочисленные цитокины – IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-11, TNF α , TNF β , колониестимулирующие факторы, лейкозингибирующий фактор, IFN γ , TGF β [20, 21]. Не вызывает сомнения тот факт, что изучение реакций крови при восстановлении костной ткани позволит оценить роль иммунологических реакций в регенерации кости и исследовать влияние отдельных звеньев иммунной системы на характер остеогенеза, что позволит найти полученным результатам практическое применение. Таким образом, актуальным представляется изучение значения иммунологических реакций при регенерации кости для прогнозирования осложнений остеогенеза.

Материалы и методы

Исследования проведены у пациентов с повреждениями лицевого скелета (давность травмы составила в среднем – 12 \pm 3 суток) до и после стабильного остеосинтеза нижней челюсти в условиях фиксации аппаратом внешней фиксации. Диагноз установлен на основании клинико-рентгенологических критериев. В ходе ретроспективного анализа больные были разделены на группы с нормальной (66 пациентов) и замедленной в условиях остеомиелита (17 человек) регенерацией костной ткани.

Лабораторные исследования проводили до операции, на 3, 10 сутки, через 1 и 3 месяца. Кровь получали натощак утром, из периферической вены (антикоагулянты – гепарин и цитрат натрия). Для оценки иммунного статуса был использован стандартный унифицированный комплекс лабораторных тестов, дополненный современными диагностическими методами [10]. Число лейкоцитов и популяционный состав определяли с помощью гематологического анализатора Cell Dyn 1700, реагенты и оборудование фирмы «Abbott». Дифференциацию популяционного состава лейкоцитов крови проводили в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, с расчетом ядерного индекса нейтрофилов (ЯИН) как отношения палочкоядерных нейтрофилов к сегментоядерным [4]. Фенотипирование лимфоцитов осуществляли иммуноцитохимическим методом с использованием ФИТЦ-меченых

(флюоресцеинизотиоцианид) анти-CD3 (для выявления Т-лимфоцитов) и анти-CD19 (для определения В-лимфоцитов) моноклональных антител («Сорбент», Россия) [15]. Активацию Т-лимфоцитов *in vitro* осуществляли фитогемагглютинином (ФГА) и оценивали в реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) [12]. Метаболическую активность нейтрофилов оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (NBT-тест) под действием перекисных радикалов клеток и оценивали методом световой микроскопии [16]. Способность нейтрофилов к киллингу определяли используя данные цитохимического исследования клеток. Активность миелопероксидазы (МП) – по Грэнхему–Кноллю [6], результат выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по Kaplow [19]. Уровень лизосомальных катионных белков цитоплазмы устанавливали в реакции с бромфеноловым синим, результат также выражали в виде СЦК [11]. Содержание лактоферрина в сыворотке определяли методом двухсайтового «сэндвич»-варианта ИФА на планшетах с использованием наборов реагентов «Лактоферрин-стрип» («Вектор-Бест», Новосибирск). Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре (производитель – НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва). Активность лизоцима оценивали гель-диффузионным методом по способности лизировать тест-культуру *M. lysodeikticus* [13], функциональное состояние системы компонента – методом 50% гемолиза [12]. Содержание лактоферрина и цитокинов (IL-1 α , IL-8, TNF α , IL-10 и рецепторного антагониста IL-1) определяли используя «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА с использованием тест-систем ООО «Протеиновый контур», ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург), «Вектор-Бест» (Новосибирск) и тест-системы Cytoscreen фирмы «BioSource International» (США) на иммуноаналитическом оборудовании Stat Fax («Awaress Technology Inc»). Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) определяли методом латекс-агглютинации (тест-система «Biocon», Германия), церулоплазмина по Раввину [5]. Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики и модифицированной теоремы Т. Байеса [8], используя программу «STATISTICA» ver. 6.0. («StatSoft», США). Дополнительно рассчитывали диагностическую чувствительность, диагностическую специфичность и информативность иммунологических тестов по общепринятым формулам 1, 2, 3 [14]:

$$\text{Диагностическая чувствительность} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛО}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Диагностическая специфичность} = \frac{\text{ИО}}{\text{ИО} + \text{ЛП}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Информативность тестов} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛП}} \times 100, \quad (3)$$

где ИП – истинные положительные результаты: число больных с осложнением, которые были правильно классифицированы с помощью данного критерия; ЛП – ложные положительные результаты: число больных без осложнения, которые были ошибочно отнесены к числу больных с осложнением по результатам данного теста; ИО – истинные отрицательные результаты: число больных без осложнения, которые были правильно классифицированы с помощью данного теста; ЛО – ложные отрицательные результаты: число больных с осложнением, которые были неправильно классифицированы с помощью данного теста.

Результаты и обсуждение

Повреждения лицевого скелета, особенно с медленной консолидацией костной ткани, приводят к нарушениям функций организма и формируют эстетические дефекты, поэтому создание системы прогнозирования осложнения остеогенеза в восстановлении переломов нижней челюсти становится важной задачей. Для решения вопроса участия иммунологических реакций в восстановлении костной ткани сначала рассматривали динамику основных лабораторных показателей при нормальной консолидации повреждений нижней челюсти. До операции значения иммунологических параметров сравнивали с известными литературными данными [3, 7].

Особенности иммунологических реакций при нормальной регенерации костной ткани

До операции наряду с небольшим увеличением относительного количества CD3⁺, CD19⁺ клеток выявлено повышение продукции IgA и IgM последними (табл. 1). Наблюдалось также сниже-

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ НОРМАЛЬНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Показатели	Нормальные значения	До операции	3 сутки	10 сутки	1 месяц	3 месяца
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	4,0-9,0	6,85±0,33	6,68±0,45	7,30±0,51	7,35±0,55	7,30±0,48
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	2,00-5,80	4,34±0,26	4,40±0,27	4,62±0,43	4,70±0,30	4,88±0,35
ЯИН	0,02-0,06	0,03±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,09-0,60	0,54±0,05	0,45±0,05	0,69±0,05*	0,50±0,05	0,52±0,05
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,2-3,0	1,89±0,09	1,56±0,27	2,08±0,22	2,15±0,09*	2,10±0,09
CD3 ⁺ , %	46,0-56,0	60,00±2,00	63,33±1,67	51,29±6,36	62,40±7,17	62,33±0,88
CD19 ⁺ , %	4,0-8,0	9,50±1,50	9,67±1,17	9,71±0,64	9,20±1,98	7,33±0,33
РТМЛ с ФГА, %	0-30	8,03±0,24	23,02±1,25*	13,50±1,08*	5,06±1,03	22,09±1,11*
NBT-спонтанный	10-20	34,05±9,10	23,67±4,77	31,50±6,36	32,40±9,05	24,00±9,64
NBT-стимулированный	50-100	31,00±4,00	35,56±5,59	37,13±5,94	52,20±4,46*	49,67±4,17*
Индекс стимуляции NBT	> 1,3	1,00±0,20	1,83±0,27*	1,52±0,26	1,73±0,14*	2,81±0,56*
Миелопероксидаза, СЦК	1,9-2,8	1,91±0,25	0,70±0,12*	2,28±0,33	2,10±0,08	0,69±0,09*
Катионные белки, СЦК	1,6-1,9	1,35±0,12	1,22±0,11	1,27±0,02	1,36±0,12	1,22±0,05
Лактоферрин, нг/мл	700-1500	825,10±12,60	501,09±12,65*	1250,90±18,34*	836,21±25,16	500,03±12,89*
IgA, г/л	1,38-2,50	2,89±0,23	2,69±0,31	2,89±0,45	3,18±0,18	2,03±0,29
IgM, г/л	0,92-2,10	2,27±0,03	1,41±0,23*	1,62±0,24*	1,60±0,22*	2,10±0,63
IgG, г/л	8,5-15,8	12,35±2,05	11,73±0,58	12,56±0,77	12,30±0,57	11,97±2,56
Лизоцим, мкг/мл	28,6-31,0	16,23±1,17	20,80±1,56*	12,25±2,37	8,02±1,88*	14,90±2,04
СН50	40,0-42,0	50,28±2,06	36,35±5,00*	45,30±2,28	48,06±2,26	36,71±13,38
IL-1α, пг/мл	0-50	22,06±2,04	21,03±1,54	625,18±12,36*	20,14±1,98	19,25±1,15
IL-1Ra, пг/мл	0-500	35,24±0,22	40,08±1,45*	609,65±12,54*	81,07±2,59*	39,66±3,08
TNFα, пг/мл	0-50	11,17±6,23	25,03±6,17	141,25±33,75*	39,50±2,98*	24,37±7,02
IL-8, пг/мл	0-50	42,88±3,64	76,03±3,60*	415,12±11,98*	70,47±2,65*	39,74±2,99
IL-10, пг/мл	< 1,0	2,31±0,08	0,07±0,02*	0,02±0,01*	0,09±0,03*	0,92±0,04*
Церулоплазмин, г/л	0,24-0,42	0,53±0,02	0,40±0,05*	0,55±0,10	0,29±0,04*	0,33±0,07*
СРБ, мг/л	0-8	11,50±5,50	7,50±2,95	30,84±13,40	1,40±0,25*	0,61±0,02*

Примечание: * – p < 0,05 в сравнении с дооперационным уровнем.

ние активности кислородзависимых (NBT-тест) и кислороднезависимых (катионные белки) механизмов киллинга, понижение концентрации сывороточного лизоцима. Основные обнаруженные изменения были обусловлены воспалительной реакцией, вызванной повреждением костной ткани при переломе нижней челюсти, которую оценивали на основании комплекса острофазовых протеинов. До операции, в частности, было выявлено повышение наиболее чувствительного СРБ с увеличением концентрации церулоплазмينا и активности комплемента, что свидетельствовало о наличии острого воспалительного процесса (табл. 1).

На 10 сутки после операции количество моноцитов увеличивалось на 27,8% ($p < 0,05$) в сравнении с дооперационным уровнем, а через 1 месяц после операции количество лимфоцитов возрастало на 13,8% ($p < 0,05$), популяционный состав лимфоцитов не менялся (табл. 1). Известно, что признанным митогеном для оценки активности Т-системы является ФГА. По данным нагрузочных тестов с ФГА усиление функциональной активности было выявлено в раннем послеоперационном периоде, то есть на 3-10 сутки после операции (табл. 1), в этот же период отмечалось снижение концентрации IgM на 37,9% ($p < 0,05$) с последующим восстановлением его уровня в крови (табл. 1). В послеоперационном периоде также отмечалось повышение активности «ранних» механизмов киллинга: увеличение уровня лактоферрина на 51,6% ($p < 0,05$) и подъем значений NBT-теста на 83% ($p < 0,05$). Со стороны гуморального иммунитета выявлено достоверное снижение активности комплемента на 27,7% ($p < 0,05$) с последующим быстрым восстановлением к 10 суткам, что, по-видимому, было связано с его участием в элиминации чужеродных агентов при развитии воспалительной реакции.

В связи с тем, что в регуляции иммунологических реакций важную роль играли не только клеточные и гуморальные реакции, но и отмечалось влияние ряда низкомолекулярных пептидов (цитокинов), была изучена динамика некоторых из них. В частности, было установлено, что в послеоперационном периоде наблюдалось повышение концентрации IL-1 α ($p < 0,05$), активатора начальных этапов иммунного ответа (табл. 1), что, по всей видимости, определяло развитие и протекание большого числа иммунологических реакций при восстановлении костной ткани. Одновременно с этим было выявлено повышение концентрации рецепторного антагониста IL-1 – IL-1Ra, который ограничивал развитие системной воспалительной реакции (табл. 1). Концентрации IL-1 α и IL-1Ra увеличивались соответственно в 28,4 раза и 17,3 раза к 10 сут-

кам наблюдения в сравнении с дооперационными значениями. Похожая динамика была характерна и для TNF α ($p < 0,05$), обладающего сходными с IL-1 флогенными свойствами. На 10 сутки отмечалось достоверное увеличение уровня еще одного фактора воспаления – IL-8, концентрация которого в крови увеличивалась в 9,7 раза в сравнении с дооперационным значением (табл. 1). Вместе с тем, в период активации наблюдаемых процессов было выявлено снижение концентрации IL-10, являющегося фактором, угнетающим синтез большей части цитокинов. Его концентрация в сыворотке снижалась более чем в 100 раз ($p < 0,05$). Воспалительная реакция при нормальной регенерации костной ткани имела небольшую активность и продолжительность.

Известно, что регенерация костной ткани складывается из нескольких последовательно сменяющихся стадий: воспаления, пролиферации остеобластов, коллагеногенеза и оссификации. В нашем случае дополнительные исследования проводили через 3 месяца после операции, на последнем этапе, когда аппарат был демонтирован, репаративная регенерация завершилась, костная ткань сформировалась, нижняя челюсть функционировала в обычном режиме. К моменту формирования функционально полноценной кости иммунологические показатели были в пределах нормальных значений.

У ряда больных с остеомиелитом (17 человек) на основании клинико-рентгенологических данных была выявлена замедленная регенерация костной ткани нижней челюсти, которая наступала в 1,5 раза позднее, чем при нормальной консолидации ($p < 0,05$).

Особенности реакции крови при замедленной регенерации нижней челюсти

В данной подгруппе до операции выявлены отличия иммунологических показателей от данных, полученных при нормальной консолидации костной ткани, не осложнявшейся остеомиелитом. Количество моноцитов (табл. 2) было понижено на 59,3% ($p < 0,05$). Отмечалось достоверное ослабление механизмов бактерицидной активности – уровень лактоферрина был снижен в 3,5 раза ($p < 0,05$) и составлял только 33,6% в сравнении с нормальными значениями; то же можно отметить и для активности комплемента – 30,2% от нижней границы нормы и ниже в 4,2 раза ($p < 0,05$), чем в группе с нормальной костной регенерацией. Повышенная концентрация IgM на 37,4% ($p < 0,05$) также превышала на 49% и нормальные значения (табл. 2). Отмечалась повышенная функциональная активность CD3⁺ клеток более чем

в 3,5 раза ($p < 0,05$) – отличия зафиксированы в реакции торможения миграции лейкоцитов (табл. 2). Уровень сывороточного лизоцима был снижен в 5,8 раза. Интересно, что концентрация рецепторного антагониста IL-1Ra была ниже концентрации IL-1 α (табл. 2), что не отмечалось у больных с нормальной консолидацией костной ткани. Уровень IL-8 был снижен в 1,8 раза ($p < 0,05$) (табл. 2) в сравнении с больными с нормальной консолидацией костной ткани.

Послеоперационный период характеризовался активацией лейкопоза (нейтрофильный лейкоцитоз с ядерным сдвигом). На 3 сутки выявлено снижение числа Т-клеток (по динамике CD3⁺) на 40,8% ($p < 0,05$), что подтверждает ранее опубликованные данные [9]. Восстановление популяции Т-клеток произошло к 10 суткам (табл. 2). Возможно, такое изменение количества Т-клеток в раннем послеоперационном периоде привело, в конечном итоге, к нарушению регенерации костной ткани, поскольку известно, что как путем выработки INF γ , так и через простагландиновый механизм эти клетки участвуют в ингибировании разрушения костного вещества и образования остеокластов. Снижение относи-

тельного количества В-клеток (CD19⁺) на 55,6% ($p < 0,05$) наблюдалось несколько позже – на 10 сутки (табл. 2).

Важные изменения наблюдались со стороны показателей, характеризующих фагоцитарную активность нейтрофилов. Усиление реакций было выявлено на 3 сутки после операции, когда спонтанная и стимулированная продукция перекисных радикалов нейтрофилами превосходила значения в контрольной подгруппе в 1,6-1,7 раза ($p < 0,05$). Можно предполагать, что изменения в системе нейтрофильных фагоцитов в крови отражают процессы, происходящие в костной ткани. Интересным для изучения представлялась динамика содержания лактоферрина на этапах консолидации костной ткани (табл. 2). Как отмечалось ранее, до операции его уровень был значительно снижен. В связи с тем, что лактоферрин обуславливает пролиферацию остеобластов и рост кости, не исключается, что понижение уровня лактоферрина в крови также является одной из причин замедленной регенерации костной ткани. В дальнейшем, после операции, содержание лактоферрина было всегда достоверно ниже у больных с нарушенным остеогенезом

ТАБЛИЦА 2. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ЗАМЕДЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Показатели	До операции	3 сутки	10 сутки	1 месяц	3 месяца
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,08±0,50	9,08±0,66*#	8,43±0,47*	6,13±0,38	7,50±0,51
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	4,37±0,38	6,95±0,48*#	5,17±1,01	3,63±0,39#	4,76±0,69
ЯИН	0,04±0,01	0,08±0,01*#	0,06±0,01#	0,04±0,01	0,02±0,01
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,32±0,07#	0,52±0,15	0,30±0,11	0,59±0,10*	0,58±0,18
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,09±0,20	1,40±0,22*	2,63±0,55	1,70±0,10#	1,94±0,22
CD3 ⁺ , %	63,77±3,24	38,50±3,51*#	46,47±3,54*	63,61±2,98	47,74±3,64*#
CD19 ⁺ , %	7,03±0,89	9,06±2,01	4,31±0,59*#	5,88±0,47#	12,71±0,36*#
РТМЛ с ФГА, %	28,45±5,46#	45,45±5,07*#	44,73±6,98#	42,07±5,32#	91,09±12,34*#
NBT-спонтанный	41,12±5,96	37,02±3,99#	23,07±6,34*	45,23±5,87	25,31±5,34*
NBT-стимулированный	31,09±3,88	60,50±1,54*#	38,18±4,67	68,34±5,46*#	39,96±6,13
Индекс стимуляции NBT	0,75±0,21	1,64±0,24*	1,65±0,13*	1,51±0,22*	1,50±0,14*#
Миелопероксидаза, СЦК	1,88±0,14	2,19±0,18#	2,12±0,15	1,37±0,19#	0,77±0,12*
Катионные белки, СЦК	1,42±0,07	1,63±0,08*#	1,36±0,12	1,55±0,11	1,26±0,07
Лактоферрин, нг/мл	235,14±22,63#	451,09±17,35*#	956,88±16,44*#	566,22±23,26*#	355,84±14,87*#
IgA, г/л	2,48±0,41	2,59±0,19	2,46±0,15	2,06±0,21#	2,68±0,31
IgM, г/л	3,12±0,38#	1,05±0,19*	2,80±0,25#	0,78±0,13*#	2,86±0,34
IgG, г/л	15,30±2,36	11,26±2,20*	14,13±1,87	6,31±0,69*#	14,51±1,45
Лизоцим, мкг/мл	2,78±0,49#	3,87±0,56#	14,21±2,33*	3,87±0,49#	13,41±2,17*
СН50	12,07±1,18#	44,93±2,51*	13,46±1,49#	44,03±2,66*	44,07±2,37*
IL-1 α , пг/мл	30,24±3,08#	234,07±21,46*#	604,26±18,29*	36,41±2,65#	18,33±2,14*
IL-1Ra, пг/мл	18,36±1,17#	100,51±13,96*#	321,61±15,96*#	24,74±2,96*#	13,22±1,74*#
TNF α , пг/мл	22,65±6,58	62,50±11,54*#	75,12±9,67*#	100,33±9,89*#	102,61±10,24*#
IL-8, пг/мл	24,15±4,78#	90,32±3,66*#	180,74±14,85*#	55,41±6,74*#	41,65±8,97*
IL-10, пг/мл	2,19±0,07	0,08±0,02*	0,04±0,01*	0,04±0,01*	0,85±0,06*
Церулоплазмин, г/л	0,50±0,02	0,75±0,16#	0,66±0,08	0,51±0,12	0,99±0,09*#
СРБ, мг/л	9,09±0,22	6,01±1,12*	0,14±0,03*#	0,12±0,03*#	0,14±0,04*#

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с дооперационным уровнем, # – $p < 0,05$ в сравнении с неосложненным течением.

в сравнении с пациентами, у которых сращение костной ткани проходило в обычные сроки.

Замедленное формирование костной ткани сопровождалось достоверным, на 72%, увеличением уровня IgM (табл. 2). Воспалительная реакция характеризовалась выраженной динамикой медленнореагирующих острофазовых белков. В частности, концентрация церулоплазмينا на 3 сутки после операции была выше в 1,9 раза ($p < 0,05$), чем у больных с нормальной регенерацией костной ткани. Функциональная активность Т-клеток на протяжении всего периода наблюдения была выше в 2-3,3 раза ($p < 0,05$), чем у больных с нормальной консолидацией, при этом она превышала нормальные значения в 1,5 раза (табл. 1). Активность катионных белков и миелопероксидазы была выше соответственно на 33,6% ($p < 0,05$) и в 3,1 раза ($p < 0,05$), а концентрация лизоцима достоверно снижена в 5,4 раза (табл. 2). Динамика цитокинов также отличалась: на 3 сутки после операции значительно, а именно более чем в 11 раз ($p < 0,05$), возростала концентрация IL-1 α , одного из стимуляторов остеокластов (табл. 2), однако сходные изменения наблюдались и у больных с нормальной регенерацией костной ткани. Скорее всего, в нарушении регенерации важную роль играло соотношение между уровнем IL-1 α и IL-1Ra после операции (на 10 сутки), когда у больных с нормальной консолидацией костной ткани оно было равным (табл. 1), а при замедленной – уровень IL-1Ra был почти в 2 раза ниже концентрации IL-1 α (табл. 2).

Через 1 месяц, когда в другой подгруппе регенерация костной ткани завершилась, у пациентов с замедленной консолидацией она находилась в стадии коллагеногенеза. Особенности динамики иммунологических показателей были следующими. Количество нейтрофилов и лимфоцитов было снижено соответственно на 23%

($p < 0,05$) и 21% ($p < 0,05$) в сравнении с нормальной регенерацией костной ткани. Выявлены признаки угнетения гуморального иммунитета – уровень IgA был ниже на 35,3% ($p < 0,05$), концентрация IgM (табл. 2) и IgG – в 2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с результатами у больных при нормальной регенерации костной ткани. Отмечалось также снижение активности миелопероксидазы на 34,8% ($p < 0,05$) и концентрации лизоцима в 2 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Через 1 месяц после операции уровень рецепторного антагониста IL-1 был выше концентрации IL-1 α (табл. 2), а содержание TNF α было увеличено в 2,5 раза ($p < 0,05$), при этом функциональная активность CD3⁺ клеток (табл. 2), как уже упоминалось, была повышена в 8,3 раза ($p < 0,05$).

Интересно, что в условиях, когда регенерация костной ткани уже завершилась (через 3 месяца после операции), составляющие иммунной системы, обуславливающие рост кости, – лактоферрин, популяция Т-клеток – остаются сниженными соответственно на 40,5% ($p < 0,05$) и на 23,4% ($p < 0,05$), а обуславливающие разрушение – TNF α – продолжают сохраняться в высоких концентрациях (табл. 2) – уровень TNF α был увеличен в 4,2 раза ($p < 0,05$). Функциональное состояние Т-клеток в реакции торможения миграции нейтрофилов было повышенным в 4,1 раза (табл. 2), функционально-метаболическая активность нейтрофилов нормализовалась.

На основании проведенного исследования были разработаны критерии прогнозирования замедленной консолидации костной ткани в лечении повреждений нижней челюсти (табл. 3).

Предложенные критерии позволяют на разных этапах лечения (до операции, на 3 или 10 сутки после операции) прогнозировать развитие

ТАБЛИЦА 3. КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЗАМЕДЛЕННОЙ КОНСОЛИДАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В ЛЕЧЕНИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствительность	Специфичность	Информативность тестов
До операции					
IgM, г/л	↑ 2,4	0,9-2,3	85,4%	94,6%	87,3%
СРБ, мг/л	↓ 9,3	9,4-17,0	79,2%	81,2%	83,2%
3 сутки					
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	↑ 6,9	4,0-6,8	92,3%	80,1%	93,1%
CD3 ⁺ , %	↓ 45,0	46,0-70,0	90,4%	92,3%	91,7%
NBTсп, %	↑ 33,0	10,0-32,0	91,4%	77,8%	96,3%
Лактоферрин, нг/мл	↓ 499,0	500,0-1500,0	81,3%	88,4%	86,2%
TNF, пг/мл	↑ 51,0	0-50,0	92,0%	90,9%	94,1%
10 сутки					
СН50	↓ 36,0	37,0-54,0	91,5%	93,0%	92,6%
IgM, г/л	↑ 2,7	0,9-2,6	87,7%	88,3%	89,5%

осложнения. Для каждого из них рассчитана диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность и информативность тестов, то есть способность предсказать возможное развитие замедленной консолидации костной ткани. Коэффициент детерминации на независимой тестовой выборке (49 человек) был рассчитан для всех критериев и находился в диапазоне 84,2-97,5%. Совместное использование двух и более прогностических показателей позволяет повысить диагностическую ценность тестов на 3-4%, это дает более широкие возможности клиницисту в прогнозировании замедленного костеобразования.

Выводы

Сменяющиеся стадии регенерации костной ткани (воспаление, пролиферация остеобластов, коллагеногенез и оссификация) сопровождаются изменениями иммунологических параметров.

Осложнениям остеогенеза свойственна определенная динамика иммунологических показателей.

Прогностическими критериями замедленной консолидации костной ткани являются: до операции — увеличение уровня иммуноглобулина М и снижение концентрации С-реактивного белка, в раннем послеоперационном периоде — увеличение количества лейкоцитов, концентрации фактора некроза опухолей и иммуноглобулинов класса М, а также снижение числа CD3⁺ клеток, активности комплемента и содержания лактоферрина.

Список литературы

1. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. — Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2001. — 277 с.
2. Жеклов А.Н., Петленко С.В., Богданова Е.Г., Парфилова Т.В. Изменения иммунитета и факторов неспецифической защиты у пострадавших от тяжелой механической политравмы // Мед. иммунология. — 2002. — Т. 4, № 2. — С. 327-328.
3. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Иммунология для врача. — СПб: ТОО «Гиппократ», 1998. — 156 с.
4. Клиническая лабораторная аналитика. В IV т. Т. IV. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Агат-Мед, 2003. — 816 с.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. — Екатеринбург, 1982. — 290 с.
6. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
7. Лившиц В.М., Сидельникова В.И. Лабораторные тесты у здоровых людей (референтные пределы): Справочник. — М.: Триада, 2004. — 128 с.
8. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии: Руководство / Под ред. Ю.М. Комарова. В 2 т. Т. 1. Теоретическая статистика — М.: Медицина, 2000. — 412 с.
9. Меленберг Т.В., Жестков А.В. Иммунологические аспекты несросшихся переломов нижней челюсти // Мед. иммунология. — 2002. — № 2, Т. 4. — С. 156.
10. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях: Метод. рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения, разработанные сотрудниками Минздрава России / Сост.: Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. — 1992. — № 6. — С. 51-62.
11. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. — М.: Медицина, 1978. — 128 с.
12. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В., Череев А.Н., Коган В.Ю. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. — М.: Промедэк, 1993. — 320 с.
13. Федорцов К.К., Кузьмин С.Н., Козлова Н.Н., Першин Б.Б. Стандартизация определения активности лизоцима методом диффузии в агаровом геле // Лабораторное дело. — № 12. — С. 735-736.
14. Тица Н.У. Энциклопедия клинических и лабораторных тестов: Пер. с англ. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Лабинформ, 1997. — 942 с.
15. Тотолян А.А., Балдуева И.А., Бунова Л.Н., Закревская А.В., Зуева Е.Е., Калинина Н.М., Лисицина З.Н. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека. Часть 1. Доаналитический этап. Часть 2. Метод непрямо́й иммунофлюоресценции // Клинич. лаб. диагностика. — 2001. — № 8. — С. 31-38.
16. Шатров В.А., Кузнецова Л.В., Беляновская Т.И. Изучение способности моноцитов больных туберкулезом легких восстанавливать нитросиний тетразолий при фагоцитозе частиц латекса // Лабораторное дело. — 1985. — № 7. — С. 408-410.
17. Partanen J., Heikkinen J., Jämsä T., Jalovaara P. Characteristics of lifetime factors, bone metabolism, and bone mineral density in patients with hip fracture // J. Bone Mineral Metab. — 2002. — Vol. 20, N 6. — P. 367-375.
18. Cornish J. Lactoferrin promotes bone growth // Biometals. — 2004. — N 17. — P. 331-335.

19. Kaplow L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // Blood. — 1955. — Vol. 10. — P. 1023-1029.

20. Kobayashi Y., Hashimoto F., Miyamoto H. Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor beta and osteoprotegerin expression // J. Bone Miner. Res. — 2000. — N 15. — P. 1924-1934.

21. Lorenzo J.A. Interactions between immune and bone cells: new insights with many remaining questions // J. Clin. Invest. — 2000. — N 106. — P. 749-752.

поступила в редакцию 07.02.2008
отправлена на доработку 19.02.2008
принята к печати 17.03.2008