

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ В ХИРУРГИИ

РЕЗОРБЦИЯ И РЕГЕНЕРАЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ – ДВЕ СТОРОНЫ ОДНОГО ПРОЦЕССА: ОБЩИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ

Бердюгина О. В.

Свердловская областная клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия

Состояние костной ткани определяется соотношением процессов костеобразования и остеорезорбции. Они регулируются сложным комплексом факторов, обусловленных влиянием кровеносной, эндокринной, нервной систем. Особую роль в этом занимает иммунная система. Регенерация является основой сращения повреждений костной ткани, страдающей при различных патологических процессах. В патогенезе ряда деструктивных процессов возрастает роль остеорезорбции, например, усиливается при эндопротезировании крупных суставов. Установлены факты участия иммунной системы в инициации и течении резорбции костной ткани на границе ее контакта с имплантатом. Несомненно, в регуляции обоих этих процессов принимает участие иммунная система, поэтому целью настоящего исследования стало определение общих иммунологических механизмов регуляции костеобразования и остеорезорбции.

Регенерацию костной ткани изучали в условиях стабильного остеосинтеза устройством внешней фиксации у больных с повреждениями нижней челюсти (66 человек), остеорезорбцию – у больных после имплантации эндопротеза тазобедренного сустава (54 человека). Лабораторные исследования проводили при поступлении больного в клинику и в динамике после операции в сроки до трех лет. Иммунный статус оценивали с использованием стандартного унифицированного комплекса тестов, рекомендованного Институтом иммунологии МЗ РФ. Обследование включало общий анализ с вычислением основных лейкоцитарных индексов (ЛИА, ИЛ СОЭ). Поверхностные антигены лимфоцитов определяли методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител LT 3 (CD3) и 3F (CD19) («Сорбент», Москва). Оценку продукции лектинов проводили в реакции торможения миграции лейкоцитов с ФГА. Фагоцитоз и функционально-метаболическую активность нейтрофилов исследовали в реакции поглощения инертных частиц латекса, НСТ-тесте, определении концентрации лактоферрина, активности катионных белков и миелопероксидазы. Определение ИГ А, М, G проводили методом простой радиальной иммунодиффузии, ИГ Е методом ИФА. Активность лизоцима оценивали геле-диффузионным методом. Определение уровня ЦИК проводили в реакции осаждения ПЭГ 6000. Определение сенсibilизации организма – выявление неполных антител к компонентам эндопротеза – гаптанам (солям титана и костному цементу) проводили методом микропреципитации. Методом ИФА определяли концентрацию цитокинов IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-8, IL-10, TNF- α («Протеиновый контур», «Цитокин», Санкт-Петербург, BioSource International, США). Острофазовую реакцию, в связи с неоднозначностью, оценивали по дина-

мике нескольких белков – СРБ, фибриногена, гаптоглобина, церулоплазмينا, альбумина. Статистическая обработка результатов проведена с использованием компьютерной программы «STATISTICA».

Регенерация костной ткани в условиях стабильного остеосинтеза протекала на фоне лимфоцитарной реакции, которая, по данным ряда авторов, свидетельствует о высокой активности остеогенеза. Изменения количества и соотношения основных популяций иммунокомпетентных клеток не отмечалось, вместе с тем, фиксировалось изменение их функционального состояния. По данным нагрузочных тестов с ФГА, повышение функциональной активности Т-лимфоцитов отмечалось в раннем послеоперационном периоде (3-10 сутки), в этот же период фиксировалось снижение синтеза Ig M. Регенерация сопровождалась также моноцитарной реакцией с увеличением продукции лизоцима. Функциональная активность нейтрофилов определялась преимущественно усилением кислородзависимых механизмов киллинга (повышение уровня лактоферрина и увеличение ИС-НСТ). Цитокиновый спектр регенерации костной ткани был следующим. В послеоперационном периоде наблюдалось увеличение IL-1 α ($p < 0,05$), одновременно с которым было выявлено повышение концентрации конкурентного ингибитора IL-1 (IL-1ra). Последний, по-видимому, обеспечивал закрытие пути передачи сигнала, то есть ограничивал развитие системной воспалительной реакции. Похожая динамика была характерна и для TNF- α ($p < 0,05$), обладающего сходными с IL-1 свойствами. На 10 сутки отмечалось достоверное увеличение уровня IL-8, что сопровождалось привлечением нейтрофилов в очаг повреждения. Вместе с тем, в период активации наблюдаемых процессов было выявлено снижение концентрации IL-10, предотвращающего каскадное развитие реакции. В ходе исследования установлено, что воспалительная реакция в условиях стабильного остеосинтеза имела небольшую активность и продолжительность. Повышение концентрации острофазовых белков наблюдалось на 3 – 10 сутки и восстанавливалось до нормального уровня к моменту окончания формирования костного регенерата в месте повреждения, т. е. в сроки 29 $\pm$ 2 суток.

При резорбции костной ткани в послеоперационном периоде также отмечалась лимфоцитарно-макрофагальная реакция с изменением продукции остеорезорбтивных факторов (IL-1 β). Активность метаболических кислороднезависимых процессов нейтрофилов была снижена. Через 3 месяца после операции развивалась воспалительная реакция, о чем свидетельствовали нейтрофильный лейкоцитоз и повышение концентрации быстрореагирующих острофазовых белков – прежде всего, СРБ. Активация иммунной системы контролировалась TNF- α , достоверное увеличение концентрации которого отмечалось почти в 2 раза. В развитии репаративных процессов участвовали мононуклеары и прежде всего моноциты и CD19 $^{+}$ клетки. В отдаленном периоде наблюдалось вялотекущее воспаление (по данным содержания медленно реагирующих белков острой фазы). Спустя 1,5 года после имплантации эндопротеза обнаруживалось перераспределение соотношения циркулирующих в кровяном

русле популяций лейкоцитов, что подтверждалось повышением ИЛ СОЭ и снижением количества мононуклеаров (лимфоцитов, моноцитов). Снижалось количество фагоцитов с активацией миелопероксидазной активности. Была зафиксирована повышенная продукция IgA, M, E и иммунных комплексов. Перед развитием резорбции костной ткани отмечались изменения в функционировании фагоцитарного и гуморального звеньев иммунной системы, возобновлялась воспалительная реакция. У всех больных в разной мере проявлялась реакция на компоненты имплантата: в ряде случаев отмечалась эозинофилия, повышение уровня IgE, развивалась сенсибилизация к солям титана, входящим в состав имплантата и костному цементу, отмечались высокие значения индекса аллергизации.

Таким образом, было установлено, что в регуляции регенерации костной ткани и остеорезорбции принимают участие все компоненты иммунной системы. Общими для обоих процессов стали моноцитарно-лимфоцитарная реакция, изменение функциональной активности иммунокомпетентных клеток, цитокиновая и воспалительная реакция организма. В механизме регенерации костной ткани важная роль принадлежит моноцитам и лимфоцитам, изменение количества, соотношения и функционального состояния которых приводит к изменению системных и локальных индукторов и модуляторов костеобразования, в том числе продукции интерлейкинов. В механизме резорбции костной ткани большое значение принадлежит активации макрофагов с усилением продукции IL-1 и TNF, активирующих остеокласты и инициирующих воспалительную реакцию, следствием чего становится разрушение костной ткани. Это позволяет считать, что резорбция и регенерация костной ткани имеют сходные механизмы иммунорегуляции.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ IL-12p40 и IL-12p70 ДО И ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННЫХ СУСТАВОВ У БОЛЬНЫХ С ДЕГЕНЕРАТИВНО ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Винчель Р.В., Маркелова Е.В.

Владивостокский государственный медицинский университет, Приморская краевая клиническая больница № 1, Приморский краевой центр ортопедии и эндопротезирования, г. Владивосток, Россия

В последние годы было показано, что IL-12 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противомикробной защиты против вирусов, бактерий, грибов и простейших.

Целью нашей работы было оценить возможность прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде путём мониторинга уровня IL-12p40 и IL-12p70 в сыворотке у больных с ДДЗ до и после эндопротезирования тазобедренных суставов.

Материалы и методы. Нами исследована кровь 22 больных до и после операции эндопротезирования тазобедренных суставов, находившихся на лечении в Приморском краевом центре ортопедии и эндопротезирования на базе ККБ№1, из них 11 было с развившимися послеоперационными инфекционными осложнениями, 11 без инфекционных осложнений с гладким течением послеоперационного периода. Контролем служила кровь 30 здоровых доноров. У всех больных проводился четырёхкратный

забор крови: 1-до операции, 2 –на первые сутки после операции, 3 –на пятые сутки после операции, 4- на 14 сутки после операции. Определение IL-12p40 и IL-12p70 проводилось иммуноферментным методом с применением тест-систем фирмы «R & D System Inc.», США.

Результаты. Выявлено: у всех больных в предоперационном периоде показатели IL-12p70 были выше, чем в контрольной группе и составили $12,92 \pm 3,64$ пг/мл против $7,44 \pm 0,72$ пг/мл. В первые и последующие сутки после операции отмечалось некоторое снижение показателей активности IL-12p70 и на 14 сутки после операции они составили $6,74 \pm 1,09$ пг/мл. Показатели IL-12p40 изначально в предоперационном периоде были несколько ниже, чем в контрольной группе $40 \pm 10,78$ пг/мл против $57,58 \pm 6,95$ пг/мл у группы контроля. В целом в послеоперационном периоде отмечалось значительное снижение показателей IL-12p40 и на 14 сутки составило $26,24 \pm 3,02$ пг/мл.

Выявлены определённые различия уровня субъединиц IL-12 у больных с гладким и осложнённым течением послеоперационного периода. У пациентов без осложнений (гладкий послеоперационный период) установлено превышение уровня IL-12p70 в предоперационном периоде по сравнению с группой пациентов, у которых в дальнейшем развились осложнения и группой здоровых доноров ($16,89 \pm 5,92$ пг/мл против $7,84 \pm 1,46$ пг/мл и $7,44 \pm 0,72$ пг/мл соответственно). С последующим одновременным снижением показателей обеих субъединиц IL-12 в первые сутки после операции и нарастание к 5 суткам IL-12p40 способного ограничивать активность IL-12p70. При ретроспективном анализе динамики IL-12 у пациентов с послеоперационными осложнениями в предоперационном периоде имевших уровень IL-12p70 не отличавшимся от показателей здоровых, но соотношение IL-12p70/IL-12p40 было в 2 раза ниже, чем у больных с гладким течением послеоперационного периода, однако, в первые сутки после операции наблюдалось одновременное нарастание продукции IL-12p70 и IL-12p40 с последующим сохраняющимся относительным преобладанием IL-12p40.

Вывод. Ранняя активация противовоспалительного IL-12p40 (в первые сутки после операции) может служить прогностическим критерием развития послеоперационных осложнений.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ

Волокитина Е.А., Чепелева М.В., Швед Н.С., Атманский И.А., Югай А.Е.-Х., Колотыгин Д.А., Каминский А.В., Зайцева О.П., Камшилов Б.В.

ФГУН РНЦ Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г.А. Илизарова, Росздрава, Курган, Россия

Иммунологический мониторинг позволяет прогнозировать исход эндопротезирования крупных суставов, своевременно принимать меры профилактики послеоперационных осложнений.

Цель исследования - изучить влияние эндопротезирования на иммунологические показатели больных остеоартрозом тазобедренных и коленных суставов в раннем и позднем послеоперационных периодах.

Обследовано 70 больных с III стадией гипопластического (n=26) и посттравматического (n=12) коксартроза, идиопатического (n=20) и посттравматического гонартро-

за ($n=12$) в возрасте $56,4 \pm 1,5$ лет до и после имплантации протезов SLPS ЗАО «Алтимед» (Белоруссия), «Керамед» (Германия), «Смит и Невью» (США). Уровень IgA, IgM, IgG, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α в периферической крови определяли методом ИФА. Типирование лимфоцитов проводили на лазерном проточном цитометре «Beckman Coulter EPICS XL». Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли методом фотометрии после осаждения их полиэтиленгликолем (ММ 6000). Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с использованием компьютерной программы «AtteStat» (Гайдышев И.П., 2003). Для оценки достоверности различий между средними значениями применялся непараметрический критерий Вилкоксона.

До операции у всех больных регистрировалось увеличение числа ЕКТ (CD3 $^{+}$ CD56 $^{+}$ CD16 $^{+}$) до $8,3 \pm 0,72\%$; $0,15 \pm 0,002 \times 10^9$ /л. Остальные иммунологические показатели не выходили за пределы нормативных границ. На 7-е сутки послеоперационного периода количество В-лимфоцитов повысилось с $9,1 \pm 0,53\%$ ($0,15 \pm 0,011 \times 10^9$ /л) до $13,5 \pm 0,77\%$ ($0,19 \pm 0,018 \times 10^9$ /л), уменьшилось число естественных киллеров (ЕК) с $14,5 \pm 1,03\%$ ($0,23 \pm 0,021 \times 10^9$ /л) до $10,3 \pm 0,96\%$ ($0,16 \pm 0,018 \times 10^9$ /л) и ЕКТ до $5,6 \pm 0,43\%$ ($0,1 \pm 0,013 \times 10^9$ /л). Уровень IgM увеличился с $1,29 \pm 0,14$ мг/мл до $1,84 \pm 0,22$ мг/мл, содержание IL-6 повысилось с $1,45 \pm 0,595$ пг/мл до $32,4 \pm 1,69$ пг/мл. Регистрируемые изменения отражали реакцию организма на хирургическое вмешательство. Через 3-4 месяца после эндопротезирования, на этапе активной нагрузки искусственного сустава было отмечено умеренное снижение количества Т-лимфоцитов с $71,7 \pm 1,33\%$ ($1,18 \pm 0,067 \times 10^9$ /л) до $61,3 \pm 3,53\%$ ($1,03 \pm 0,022 \times 10^9$ /л), преимущественно за счёт популяции цитотоксических Т-лимфоцитов, содержание которых уменьшилось с $26,5 \pm 1,19\%$ ($0,45 \pm 0,037 \times 10^9$ /л) до $19,9 \pm 3,39\%$ ($0,34 \pm 0,099 \times 10^9$ /л). Через 9-15 месяцев после эндопротезирования число цитотоксических Т-лимфоцитов нормализовалось, при этом наметилась тенденция к снижению количества Т-хелперов, абсолютное значение которых составило $0,59 \pm 0,045 \times 10^9$ /л, (до операции данный показатель находился в пределах $0,72 \pm 0,044 \times 10^9$ /л). Уровень IgM повысился до $2,1 \pm 0,32$ мг/мл. Через 24 месяца после хирургического вмешательства было зарегистрировано дальнейшее снижение числа Т-хелперов до $34,9 \pm 0,84\%$ ($0,52 \pm 0,044 \times 10^9$ /л). Количество Т-лимфоцитов составляло $63,1 \pm 3,17\%$ ($0,83 \pm 0,015 \times 10^9$ /л). Содержание естественных киллеров повысилось до $24,3 \pm 1,73\%$ ($0,32 \pm 0,065 \times 10^9$ /л). Обращало на себя внимание увеличение уровня ЦИК с $45,5 \pm 3,54$ о.е. до $72,9 \pm 9,54$ о.е.

Изменения иммунологических показателей в поздние сроки после операции расцениваем как реакцию организма на имплантат. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности проведения иммунокорригирующей терапии в отдаленном реабилитационном периоде.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ВТОРИЧНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ

Коктыш И.В.¹, Делявский А.А.¹, Коктыш В.Т.²

¹Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, ²Дорожная больница на станции Минск БелЖД, Минск, Беларусь

Остеопороз (ОП) представляет собой многофакторное заболевание скелета, обусловленное нарушением процессов костного ремоделирования с повышением резорбции

костной ткани вследствие дисрегуляции в функционировании костной, иммунной и эндокринной систем. Одной из причин развития вторичного ОП является длительная иммобилизация больных. Считается, что в патогенезе многих форм первичного ОП участвуют цитокины, ведущая роль среди которых принадлежит IL-1 β , который способен увеличивать пролиферацию зрелых Т- и В-лимфоцитов и стимулировать остеокластогенез и активность зрелых остеокластов, изменяя баланс факторов, регулирующих их дифференцировку и активацию (RANKL, RANK и OPG). Однако роль IL-1 β при иммобилизационном ОП остается пока не ясной.

Целью исследования являлась оценка влияния IL-1 β на функциональную активность мононуклеаров периферической крови (МПК) у больных с вторичным ОП.

Материалы и методы. Были исследованы 5 больных с костно-суставной патологией, сопровождающейся вторичным иммобилизационным остеопорозом, в возрасте $61 \pm 7,2$ лет. Контрольную группу сравнения ($n=4$) составили пациенты аналогичного возраста без выявленных рентгенологических и клинических нарушений. Оценка пролиферативной активности МПК проводилась с помощью количественного колориметрического МТТ-теста. Выделенные на градиенте плотности МПК культивировались в полной культуральной среде в течение 48 ч при температуре 37 $^{\circ}$ C и 5% CO $_2$. В качестве стимуляторов и костимуляторов использовали ФГА, PWM, ЛПС (Sigma) и человеческий рекомбинантный IL-1 β (NIBSC 86/680, UK). Статистическую обработку результатов проводили в пакете прикладных программ STATISTICA 6.0 с использованием непараметрических критериев.

Результаты. Обнаружена тенденция снижения спонтанной пролиферативной активности МПК в группе больных с костно-суставной патологией, сопровождающейся остеопорозом, по сравнению с контрольной группой ($p<0,01$). Кроме того, у больных с ОП отмечается достоверное снижение пролиферативной активности лимфоцитов под влиянием PWM по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($p<0,05$), что свидетельствует о нарушении Т-зависимой В-клеточной активации МПК при вторичном ОП. В группе больных с ОП установлено также статистически значимое снижение пролиферативной активности МПК под действием митогенов (ФГА, PWM и ЛПС) при костимулирующем влиянии IL-1 β ($p<0,05$, $p<0,05$, $p<0,01$ соответственно). Возможно, снижение митоген-индуцированного пролиферативного ответа МПК у больных с ОП в присутствии IL-1 β связано с уменьшением экспрессии IL-1RI, что может наблюдаться, например, при хронической повышенной продукции эндогенного IL-1 β , поскольку сам IL-1 β способен вызывать снижение экспрессии своего рецептора на Т-лимфоцитах. Вероятно также, что IL-1 β способен повышать чувствительность МПК к активационно-индуцированному апоптозу у больных с ОП, что и проявляется в сниженной пролиферативной активности лимфоцитов.

Заключение. Выявлено изменение функциональной активности МПК больных с вторичным иммобилизационным ОП в виде нарушения кооперации Т- и В-лимфоцитов и снижения митоген-индуцированной пролиферативной активности лимфоцитов при костимуляции IL-1 β . Раскрытие механизмов взаимодействия и взаиморегуляции костной и иммунной систем открывает возможности для создания эффективной этиопатогенетической терапии и прогноза течения различных форм ОП.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ОТКРЫТЫХ ПЕРЕЛОМАХ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

Намоконов Е.В., Миromanов А.М.,
Башаров А.Р., Луценко В.Н.

Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия

Величина зоны вторичного некроза костной ткани у больных с открытыми переломами определяется тяжестью повреждения, степенью инфицированности раны и свойствами микрофлоры, с последующим развитием гипоксии и вторичного иммунодефицита. Основной задачей лечения этих пострадавших является ликвидация патогенной микрофлоры, восстановление микроциркуляции в тканях, нормализация систем «ПОЛ-антиоксиданты» и иммунитета.

Целью исследования явилось изучение изменений защитных функций организма при травмах и их инфекционных осложнениях.

Материалы и методы. Мы располагаем опытом лечения 51 больного с гнойно-воспалительными осложнениями по поводу открытых переломов костей конечностей. Процессы перекисного окисления липидов изучали путем определения в сыворотке крови гидроперекисей липидов, ТБК-продуктов, антиоксидантной активности. Исследовали содержание CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ - клеток, провоспалительных цитокинов - IL-1α, IL-1β, IL-8, TNFα, индекс «воспаления» T-aIL-1 / T-a (патент № 2193778). Для борьбы с патогенной микрофлорой местно применяли йодметроксид (патент № 2080864), в комплексной терапии назначались антиоксидантные и иммуномодулирующие препараты.

Результаты. Перед началом лечения выявлены существенные изменения со стороны иммунной системы, снижение CD3⁺ (на 45%), CD4⁺ (на 60%), увеличение CD8⁺ (на 25%), уменьшение индекса «воспаления» в 2 раза к контролю. Содержание IL-1α, IL-1β превышало норму в 13,7, IL-8 в 28,9, а TNFα в 15,2 раза. Со стороны системы «ПОЛ-антиоксиданты» отмечалось повышение ДК и карбонильных соединений на 270-320%, ТБК-продуктов на 160%, снижение АОА на 50% к контролю. При использовании в комплексной терапии йодметроксид, антиоксидантов и иммуномодуляторов, сроки очищения ран составили 3,42 ± 0,02 суток, что подтверждалось отсутствием роста в бактериологических посевах на 4,3 ± 0,05 сутки, снижением микробной обсемененности ниже критического уровня на 3,5 ± 0,1 сутки. Анализ параметров липопероксидации и антиоксидантного статуса на 6-е сутки лечения показал снижение всех изучаемых показателей по сравнению с первоначальными данными в 2-2,5 раза, наступала стабилизация клеточного и гуморального иммунитета, цитокинового баланса, что, безусловно, являлось благоприятным признаком, свидетельствующим о снижении воспалительного процесса.

Выводы. Таким образом, быстрая ликвидация патогенной микрофлоры, использование в комплексной терапии гнойно-воспалительных осложнений длинных трубчатых костей антиоксидантов и иммуномодуляторов позволяет в короткие сроки подготовить больного к реконструктивно-восстановительным операциям и сократить пребывание больных в стационаре.

АНАЛИЗ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ОБЕЗЗАРАЖИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ТКАНЕЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ

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

ФГУН Российский научный центр
Восстановительная травматология и ортопедия
им. академика Г.А. Илизарова Росздрав, г. Курган,
Россия

Послеоперационные инфекционные осложнения — важная проблема клинической хирургии. Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) и обеззараживающая активность тканевой жидкости (ОАТ) — это суммарные показатели неспецифической резистентности организма, обеспечивающие наряду с гуморальными факторами противомикробную защиту.

Цель исследования состояла в оценке факторов неспецифической резистентности организма (БАСК и ОАТ) у больных хроническим остеомиелитом в динамике.

Материалы и методы. В качестве материала исследования использовали сыворотку крови и тканевую жидкость больных хроническим остеомиелитом, леченных методом чрескостного остеосинтеза. Бактерицидную активность сыворотки крови определяли по методике О.В. Бухарина и В.А. Созыкина (1983). Уровень обеззараживающей активности тканевой жидкости определяли по методике С.А. Паевского (1992).

Результаты. У обследованных больных хроническим остеомиелитом инфекционный процесс носил полимикробный характер, обусловленный широким спектром как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Микробная обсемененность ран составляла 10⁶-10⁷ КОЕ/мл и выше.

БАСК определяли до оперативного вмешательства, в 1-3 и 7-14 сутки после операции. Было показано, что для обследованных больных характерно резкое угнетение систем естественной защиты организма. По сравнению с показателями здоровых людей (75 - 100%) у больных хроническим остеомиелитом до операции уровень БАСК снижен, в среднем составлял 60±25%. В 1-6 сутки после оперативного вмешательства уровень БАСК составлял 50±11%. Начиная с 7-х суток после операции, наблюдалось увеличение БАСК, достигая 84±11%.

Показатели ОАТ на 2-3-е сутки, а также 7-е сутки после операции варьировали от полного отсутствия зоны торможения роста микробной тест-культуры до средних значений, что отражает состояние напряженности иммунитета послеоперационных больных. На 14-е сутки после операции у всех обследованных больных выявлен высокий уровень обеззараживающей активности тканевой жидкости в эквиваленте к антибиотику - концентрация бактерицидных веществ варьировала от 21,6 до 35 мкг/мл. Это согласуется с данными литературы, свидетельствующими, что на 14 сутки лечения в поврежденном сегменте резко возрастает обеззараживающая активность тканевой жидкости.

Заключение. Знание динамики изменений показателей неспецифической резистентности в послеоперационном периоде позволяет в ранние сроки, до проявления клинических признаков, выявить осложнения и, возможно, купировать их на начальных стадиях, используя широкий круг лечебных воздействий.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ НА СЕЛЕЗЕНКЕ, ВЫПОЛНЕННЫХ В СВЯЗИ С ТРАВМОЙ: ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Павлова И.Е., Бубнова Л.Н., Каргин В.Д.

Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

До недавнего времени при травмах селезенки у здоровых лиц ее удаляли, учитывая техническую сложность ушивания раны селезенки и считая, что селезенка не является жизненно важным органом, и ее функции могут частично взять на себя другие периферические органы иммунной системы. Однако оказалось, что спленэктомия приводит к весьма существенным нарушениям иммунитета, особенно у детей. Поэтому в настоящее время внедряются органосохраняющие операции - ушивание раны или сохранение фрагмента при резекции поврежденной части органа а также аутоотрансплантация ткани селезенки в большой сальник.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния органосохраняющих операций, выполненных на селезенке в связи с травмой, на иммунный статус пациентов.

Обследовано 5 пациентов, перенесших органосохраняющие операции на селезенке (спленография или аутоотрансплантация ткани селезенки в сальник) в связи с травмой, через 1-9 лет после операции. Определяли содержание CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD7⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD25⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺ - клеток в периферической крови, уровень иммуноглобулинов G, A, M, среднемолекулярных и низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке, способность мононуклеаров периферической крови к продукции цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-6, TNFα).

Нами установлено, что у лиц, перенесших органосохраняющие операции в связи с травматическими повреждениями селезенки, отсутствуют выраженные нарушения численного состава и соотношения иммунокомпетентных клеток в периферической крови. Однако наблюдается угнетение способности лимфоцитов отвечать на митогенный стимул усилением пролиферативной активности, повышение содержания низкомолекулярных ЦИК, а также присутствует тенденция к снижению содержания сывороточного IgM. Установлено значительное повышение спонтанной продукции IL-2, IL-6, TNFα, (но не IL-1β), при этом стимулированная продукция IL-1β и TNFα снижена, а IL-2 и IL-6 повышена.

Таким образом, уменьшение ткани селезенки в результате травмы органа и ее оперативного лечения приводит к нарушениям иммунной системы, затрагивающим в большей степени функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток, что свидетельствует об участии селезенки в контроле функциональной активности мононуклеаров периферической крови.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРИ КЕРАТОПЛАСТИКЕ ВЫСОКОГО РИСКА

Слепова О.С., Быковская Г.Н., Макаров П.В., Балаян Т.Г., Илуридзе С.Л.

ФГУ МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца Росздрава, Москва, Россия

Известно, что при HLA-совместимости и адекватной иммуносупрессии (оптимальным средством признан циклоспорин А) имеется высокая вероятность прозрачного

приживления донорской роговицы. Однако при кератопластике «высокого риска» (прежде всего - при послеожоговых бельмах) даже такой оптимальный подход не дает гарантии полного успеха.

Цель: разработать иммунологические критерии контроля послеоперационного (п/о) лечения при кератопластике «высокого риска» в условиях применения циклоспорина (ЦСА).

Материалы и методы. Клинико-иммунологический мониторинг проведен у 25 пациентов, которым сразу после операции назначали ЦСА-Гексал (30 мг/кг в сутки). Сроки обследования: до и п/о (1-8,14-21сутки, затем - ежемесячно в течение 5-8 месяцев). Определяли: 1) содержание в сыворотке крови (СК): IL-2, IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-8, IL-4, IL-10; 2) клеточный ответ на антигены роговицы (РТМЛ). Ретроспективно больные были разделены на три группы: 1 - явно положительный результат лечения (8 чел.); 2 - помутнение и отторжение трансплантата (8 чел.); 3 - трансплантат прозрачный, хотя течение п/о периода не было гладким (9 чел.).

Результаты. Благоприятное течение п/о периода и успешный исход кератопластики ассоциировались с быстрым, но умеренным и непродолжительным развитием иммунного ответа на хирургическую травму, достигавшим пика в сроки от одной до трех недель; при этом содержание IL-2 в СК не выходило за пределы 180-800 пкг/мл, уровень IFNγ не превышал 200-220 пкг/мл. Усиления выработки провоспалительных цитокинов не наблюдалось: TNF обнаруживался редко и кратковременно (на 1-й неделе п/о, в пределах 50-200 пкг/мл); уровни IL-1β не превышали 100, а IL-8 - 300 пкг/мл. Спустя 1-1,5 мес. продукция цитокинов сохранялась примерно на том же уровне или подавлялась. Клеточный ответ на антигены роговицы был обнаружен у 70% больных, но лишь в первые 3-4 недели после кератопластики (пик - на 2-й неделе); позже положительная РТМЛ практически не выявлялась. Надо полагать, что использованная в этой группе больных схема ЦСА была адекватна клинической и иммунологической ситуации, позволяла предупредить нежелательное усиление секреции иммуногенных цитокинов и тканеспецифической сенсibilизации, способствуя тем самым эффективности лечения. Больные, у которых ЦСА не дал столь явного эффекта (3-я группа) или результат был отрицательным (2-я группа), существенно отличались от 1-й группы. Ретроспективный анализ показал, что определяющим фактором при этом явилась интенсивность выработки IL-2 и/или IFNγ перед операцией и в ранний п/о период. Если препарат назначали пациентам, у которых до и особенно в первые три недели после кератопластики IL-2 и IFNγ в СК не обнаруживались или уровень их был очень низким (менее 90 и 200 пкг/мл соответственно), то в большинстве случаев наблюдалось отторжение трансплантата. Значительного усиления продукции других цитокинов (IL-1, IL-8, TNF) и тканеспецифического ответа, также, не отмечалось, что в целом может свидетельствовать об иммунологической «ареактивности». Это позволяет объяснить практически полную безрезультатность и считать необоснованным применение ЦСА у таких «ареактивных» пациентов. По-видимому, в отдельных случаях нельзя исключить и передозировки препарата. Если содержание IL-2 и/или IFNγ в СК до или в первые три недели п/о было резко повышенным (>1000 и 700-800 пкг/мл соответственно), и секрецию их не удавалось подавить спустя 1-1,5 мес., то течение п/о периода, как правило, не было гладким и часто заканчивалось помутнением

трансплантата. Это сочеталось с длительным усилением выработки TNF α (150-1150 пкг/мл), и/или IL-1 β (280-920 пкг/мл), и/или IL-8 (190-1000 пкг/мл). Надо полагать, что отсутствие или недостаточный лечебный эффект ЦСА в таких случаях можно объяснить неадекватностью выбранной схемы, оптимизации которой может способствовать увеличение начальной дозы препарата и осторожный подход к ее последующему снижению.

Заключение. В целом полученные данные свидетельствуют о необходимости строго индивидуального подбора эффективной схемы ЦСА и коррекции ее в ходе клинико-иммунологического мониторинга.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЯХ ПЕРЕЛОМОВ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

Туркин А.А., Курлович Н.А., Кашуба Э.А., Грязева М.А., Выродова С.Г., Тимохина Т.Х., Варницына В.В.

Тюменская государственная медицинская академия, г.Тюмень, Россия

Введение. Нейтрофильным гранулоцитам принадлежит основная роль в инактивации микробных агентов в тканях организма. Развитие гнойно-септических осложнений сопровождается не только количественными изменениями нейтрофилов, но и изменениями их функциональной активности. Скудность локальных и общих проявлений инфекционно-воспалительного процесса в острый период травматической болезни зачастую затрудняет адекватный выбор метода остеосинтеза таких переломов, но при этом изменения функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов могут служить индикатором тяжести протекающего септического процесса.

Цель работы - установить характер изменений функциональной активности нейтрофилов при развитии гнойно-септических осложнений переломов длинных трубчатых костей.

Материалы и методы. В исследовании под наблюдением находилось 3 группы пациентов. 1-я (n=21) - пациенты страдающие хроническим посттравматическим остеомиелитом, вызванным *S. aureus*. 2-я (n=11) - пациенты с локальным воспалением мягких тканей, возбудителем которых также был *S. aureus*. 3-я (n=15) - здоровые добровольцы. Для характеристики нейтрофильных гранулоцитов исследовали их функциональную активность (НСТ-тест), а также цитохимический профиль клеток (содержание в нейтрофилах катионных белков, гликогена, активность миелопероксидазы, щелочной фосфатазы). Количественная характеристика содержания в клетках продуктов цитохимических реакций выражалась в ед. дисперсионной оптической плотности при сканирующей денситометрии с использованием лабораторного комплекса «Мекос-Ц1».

В 1-й группе все пациенты были мужчины 17-60 лет. Свищи встречались у 15-ти больных, гнойная рана у 6-ти, параоссалынные гнойники у 3-х, ложный сустав у 4-х. Местные проявления воспаления в виде гиперемии, отека, флюктуации наблюдались у 10 больных. Среди общих проявлений воспалительного процесса лихорадка наблюдалась у 14 пациентов, лейкоцитоз у 12, повышение СОЭ у 8-ми. Во 2-й группе под наблюдением находились мужчины 17-46 лет. Так, с воспалением кожных фликтен - 5 пациентов, нагноением межмышечных гематом при переломах бедра и голени - 6 пациентов. Местные проявле-

ния воспаления в виде гиперемии, отека, повышения кожной температуры в очаге воспаления наблюдалось у всех пациентов. Субфебрильное повышение температуры отмечено также у всех. Воспалительный процесс протекал 10-14 дней и заканчивался выздоровлением.

Результаты. Полученные данные показали, что в 1-й группе рост спонтанной активности нейтрофилов соответствует данным пациентов 2-й группы. Однако процентное распределение клеток по активности выявило увеличение удельного веса высоко- и низкоактивных популяций. При этом параметры стимулированного НСТ-теста и коэффициента стимуляции имели наименьшие значения среди всех групп наблюдения. Во 2-й группе определялся рост активности нейтрофилов по результатам спонтанного НСТ-теста. При этом выявлено достоверное снижение коэффициента стимуляции, а также уменьшение удельного веса низкоактивных и увеличение удельного веса высокоактивных клеток. Параллельно с изменением функциональных свойств нейтрофилов различные формы воспаления сопровождаются разной динамикой цитохимических свойств нейтрофилов. В 1-й группе активность миелопероксидазы падает в значительно большей степени, в крови практически отсутствуют высокоактивные популяции. Подобные изменения выявлены для содержания в клетках гликогена. Средняя активность щелочной фосфатазы выше параметров 3-й группы, но ниже, чем у пациентов 2-й группы. Однако увеличение средней активности обусловлено превышением содержания в крови среднеактивных клеток. Подобные изменения характерны и для содержания в нейтрофилах катионных белков. Во 2-й группе выявлено снижение активности миелопероксидазы, содержания в клетках гликогена. При этом растет активность щелочной фосфатазы и содержание катионных белков. Эквивалентно этому происходит перестройка популяционного распределения клеток по содержанию в них продуктов цитохимических реакций.

Заключение. Проведенные исследования показали, что развитие хронического посттравматического остеомиелита сопряжено со срывом механизмов адаптивного напряжения функциональных свойств нейтрофильных гранулоцитов, в основе которого лежит как истощение их энергетических ресурсов, так и нарушение баланса функциональных ферментов в клетках.

ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ С ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ АЛЛОФИБРОБЛАСТОВ

Хаджибаев А.М., Уразметова М.Д., Миркамалова Л.И., Мамадалиев Ш.Х.

РНЦ экстренной медицинской помощи, Ташкент, Узбекистан

В настоящее время ожоговую болезнь рассматривают как иммунодефицитное заболевание, при котором отмечается раннее и продолжительное снижение показателей неспецифической и иммунологической защиты. Нарушение количественного содержания и функциональной активности клеток иммунной системы и цитокинового баланса организма рассматривается как причина и следствие тяжелой гнойной инфекции и сепсиса. Однако все средства и методы лечения этих больных направлены на то, чтобы превратить открытую инфицированную ожоговую рану в чистую и закрытую с восстановлением кожных покровов. Применение алло- и аутоотрансплантации кожи,

использование пленочных покрытий не решают этой проблемы и поэтому поиски новых методов лечения ожогов продолжаются. Проводятся исследования по применению при трансплантации культивированных клеток кожи и фибробластов.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния трансплантации культивированных аллофибробластов (КАФ) на основные показатели иммунного статуса у больных с ожоговой болезнью.

В исследование включены 25 больных с термическими ожогами с площадью пораженных покровов от 30 до 50% и глубиной поражения II-IV степени. Возраст пациентов был от 12 до 60 лет. Иммунологические исследования проводились перед трансплантацией КАФ, на 7 и 15 сутки после трансплантации. Они включали подсчет количества лейкоцитов и общих лимфоцитов, выделение лимфоцитов из гепаринизированной периферической крови по Воут (1968) на градиенте плотности фиколл-верографин (1,077 г/л), фенотипирования лимфоцитов методом непрямого розеткообразования с помощью моноклональных антител производства ООО «СОРБЕНТ» РФ (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20), входящих в панель основных CD-маркеров для определения Т-лимфоцитов, Т-хелперов/индукторов, Т-цитотоксических/супрессоров, натуральных киллеров и В-лимфоцитов. Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) определяли по способности поглощать частицы латекса диаметром 1,3 мк.

Последствия ожоговой травмы накануне трансплантации КАФ (при ликвидации основной интоксикации и относительной очистке раневой поверхности) характеризовались нарушениями показателей иммунного статуса. Так, при повышении количества общих лимфоцитов на 36% против физиологической нормы, наблюдалось снижение Т-лимфоцитов на 26%, а Т-хелперов на 37% с более выраженным повышением количества натуральных киллеров и В-лимфоцитов (на 56 и 71% соответственно).

Трансплантация КАФ способствовала некоторому изменению уровня показателей иммунного статуса. Так, на 7 сутки после трансплантации наблюдалось снижение количества общих лимфоцитов с повышением процента их содержания, т.е. с выраженным устранением лейкоцитоза. При этом снижение относительного содержания Т-лимфоцитов (CD3) сопровождалось тенденцией к нормализации процентного содержания Т-хелперов (CD4) и Т-цитотоксических супрессоров (CD8) и их соотношения: иммунорегуляторный индекс (ИРИ) повышался на 22% по сравнению с исходным. Особенно заметно повышалась ФАН (до $42,3 \pm 0,57\%$ против $29,8 \pm 1,39\%$ до трансплантации). Содержание натуральных киллеров (CD16) несколько снижалось, а количество В-лимфоцитов (CD20) оставалось высоким.

Исследования на 15 сутки после трансплантации КАФ показали небольшое (недостовверное) снижение количества общих лимфоцитов, повышение процента Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров, при этом ИРИ оставался на уровне 7 суток после трансплантации. ФАН при этом не изменялась. Однако по-прежнему оставались высокими количество В-лимфоцитов (147,7% против нормы) и натуральных киллеров (139% против нормы).

Таким образом, полученные результаты изучения состояния иммунного статуса у больных с ожогами и влияние при этом трансплантации КАФ показали, что для ожоговых больных характерны общие закономерности нару-

шений иммунной системы, определяемым по снижению процентного содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, ИРИ, ФАН, но повышению количества В-лимфоцитов и натуральных киллеров. Эти показатели свидетельствуют о стойком нарушении состояния иммунитета, степень которого несколько колебалась, т.е. была выражена в разной степени у отдельных пациентов. Проведение трансплантации КАФ несколько улучшало состояние иммунного статуса больных. Особенно на 15 день наблюдалась тенденция к нормализации количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, ИРИ, ФАН, натуральных киллеров и В-лимфоцитов.

Полученные данные позволяют рекомендовать более детальный подход к изучению иммунного статуса у ожоговых больных при трансплантации КАФ с обязательным исследованием функциональных параметров клеточного и гуморального иммунитета.

ПРОДУКЦИЯ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ПОСЛЕ ЭКСТРАКАПСУЛЯРНОЙ ЭКСТРАКЦИИ КАТАРАКТЫ С ИМПЛАНТАЦИЕЙ ИОЛ

Шарипова Л.Р., Камалов З.С.

*Центральная городская клиническая больница,
Чирчик;*

Институт иммунологии АН РУз, Ташкент

В последние годы активизировались исследования уровня цитокинов в области офтальмопатологии. Цитокины, формирующие универсальную биологическую коммуникационную систему, иницирующие и регулирующие воспалительные, иммунные, метаболические процессы, играют важную роль в развитии и течении офтальмологических заболеваний.

Целью исследования явилось изучение уровня продукции цитокинов IL-4 и IFN γ в слезной жидкости больных катарактой в динамике до и после операции. Выбранная нами в качестве биологического объекта для исследования слезная жидкость, является наиболее доступным для тестирования субстратом, в котором уровни изучаемых показателей отражают изменения, происходящие при развитии патологического процесса на местном уровне.

Нами исследовано 30 больных в возрасте от 50 до 80 лет, госпитализированных в Центральную клиническую больницу города Чирчика. Контрольную группу составили 10 практически здоровых лиц того же возраста. Забор слезной жидкости производился до операции и на 1 и 5 сутки после операции. Уровень цитокинов определяли иммуноферментным методом с применением тест-систем "BIOSOURCE" Europe S.A. (Бельгия).

Результаты исследования показали, что в группе больных с катарактой до операции уровень IFN γ и IL-4 в 2-3 раза превышала контрольные показатели. После операции концентрация IFN γ не увеличивалась, а уровень IL-4 снижалась по сравнению с показателями до операции. По мере стихания острых явлений и нарастания регенераторно-восстановительных процессов возрастал уровень IL-4, а концентрация IFN γ снижалась.

Вывод: исследование уровня цитокинов является важным в оценке степени воспаления и прогноза послеоперационного развития процесса.