

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ НАРУШЕНИЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

О.В. Бердюгина

*Свердловская областная клиническая больница № 1,  
главный врач – заслуженный врач РФ Е.В. Самборский  
г. Свердловск*

**Введение.** Широкое внедрение в практику современных методов реабилитации пациентов с костно-суставной патологией осложняется нерешенными вопросами контроля и прогнозирования наиболее часто встречающихся осложнений, таких как замедленная консолидация, резорбция, незавершенное сращение костной ткани и других. Прежде всего, это обусловлено тем, что наиболее широко для оценки перспектив остеогенеза используют рентгенологические методы, отличающиеся низкой чувствительностью на ранних стадиях формирования регенерата, и гистологические методы, имеющие ограничения для широкого применения [7]. Свои преимущества для решения этих задач показал лабораторный мониторинг, который ранее использовался в других областях медицины [6, 10].

В 1983 году Ю.М. Зарецкая вводит понятие «иммунологический мониторинг» [3], после чего некоторые специалисты стали использовать иммунологические лабораторные тесты для контроля за результатами лечения и развитием осложнений послеоперационного периода у больных с повреждениями локоторной системы [1, 5]. На современном этапе иммунологический мониторинг – это система сбора, обработки, хранения и распространения информации об изменениях иммунологического статуса или отдельных его элементов, направленная на информационное обеспечение управления, которая позволяет судить о состоянии пациента в любой момент времени и может обеспечить прогноз его развития. Она позволяет регистрировать и оценивать динамику восстановительного процесса, прогнозировать и в ранние сроки выявлять осложнения, а также дает возможность разрабатывать предложения по лечению больного и делать заключения об эффективности лечения.

### Материал и методы

Для определения условий проведения иммунологического мониторинга в травматологии и ортопедии изучали:

- регенерацию костной ткани при стабильном остеосинтезе устройством внешней фиксации – у 136 пациентов с переломами нижней челюсти, осложненными и неосложненными остеомиелитом, и у 27 больных с переломами длинных трубчатых костей, осложненными и неосложненными остеомиелитом, при лечении методом Илизарова;

- остеорезорбцию после имплантации эндопротеза тазобедренного сустава по поводу дегенеративно-дистрофических и посттравматических заболеваний: у 77 (71,3%) больных с коксартрозом различной этиологии III стадии, у 16 (14,8%) человек с псевдоартрозом шейки бедра, у 15 (13,9%) с асептическим некрозом головки бедра – всего 108 человек;

- незавершенную консолидацию – у 111 больных с переломами позвоночника до и после остеосинтеза аппаратом внешней фиксации и переднего спондилодеза.

Клиническая характеристика обследованных больных представлена в таблице 1.

Исследования проводили при поступлении больного в клинику и в динамике после операции на 3, 10 сутки; через 1, 3, 6, 9 месяцев; 1, 1.5, 2, 2.5 и 3 года. Иммунный статус оценивали с использованием стандартного унифицированного комплекса тестов, рекомендованного Институтом иммунологии МЗ РФ. Для определения количества и соотношения основных популяций лейкоцитов проводили общий анализ крови с вычислением основных лейкоцитарных индексов. Иммунологический анализ включал:

- фенотипирование лимфоцитов с помощью ФИТЦ-меченых анти-CD3 и CD19-моноклональных антител («Сорбент», Москва);

Клиническая характеристика обследованных больных

Группа	Количество больных		Возраст (лет)	Пол				Сопутствующая патология	
	абс.	%		мужской		женский		абс.	%
				абс.	%	абс.	%		
Больные с повреждениями нижней челюсти, из них:	136	100							
неосложненное течение, нормальная консолидация;	66	48,5	39,9±1,4 (20 – 68)	54	81,8	12	18,2	36	54,5
осложненное течение (остеомиелит), нормальная консолидация;	53	39	39,9±1,4 (22 – 62)	37	69,8	16	30,2	12	22,6
осложненное течение (остеомиелит), замедленная консолидация;	17	12,5	38,0±2,3 (22 – 54)	13	76,5	4	23,5	10	58,8
Пациенты с повреждениями длинных трубчатых костей (переломы, осложненные остеомиелитом), из них:	27	100							
нормальная консолидация;	16	59,3	36,1±2,8 (20 – 56)	15	93,8	1	6,2	3	18,8
замедленная консолидация;	11	40,7	38,9±3,7 (20 – 53)	6	54,5	5	45,5	4	36,4
Больные с повреждениями позвоночника до и после остеосинтеза аппаратом внешней фиксации, из них:	111	100							
нормальная консолидация	81	73,0	30,5±1,1 (15 – 56)	51	63,0	30	37,0	49	60,5
замедленная консолидация	16	14,4	37,3±3,2 (18 – 62)	12	75,0	4	25,0	11	68,8
незавершенное сращение в позвоночном сегменте	14	12,6	30,6±2,7 (17 – 47)	7	50,0	7	50,0	8	57,1
Больные с повреждениями тазобедренного сустава при эндопротезировании, из них:	108	100							
Благоприятный исход лечения	54	50,0	52,8±1,4 (30 – 70)	28	51,9	26	48,1	43	79,6
Неблагоприятный исход лечения (резорбция костной ткани)	54	50,0	48,9±1,5 (26 – 71)	28	51,9	26	48,1	34	63,0

– оценку фагоцитоза и функционально-метаболической активности нейтрофилов в реакции поглощения инертных частиц латекса;

– определение концентрации лактоферрина;

– определение активности катионных белков;

– определение иммуноглобулинов (Ig) А, М, G методом простой радиальной иммунодиффузии, Ig E – методом иммуноферментного анализа (ИФА);

– определение уровня сенсibilизации организма: выявление неполных антител к компонентам эндопротеза – гаптенам (солям

титана и костному цементу) – методом микропреципитации;

– определение концентрации цитокинов ИЛ-1α, ИЛ-1β, ИЛ-1ra, ИЛ-8, ФНО-α («Протеиновый контур», «Цитокин», Санкт-Петербург, «BioSource International», США) методом ИФА.

Дополнительно оценивали острофазовую реакцию по изменению концентрации нескольких белков – СРБ, фибриногена, гаптоглобина, церулоплазмينا, альбумина, что было обусловлено неоднозначностью их динамики. Статистические методы исследования были проведены с использованием компьютерной программы «STATISTICA» (ver. 6.0), включа-

ли базовые статистики и теорию Байеса. Для каждого из предложенных прогностических критериев установлено пороговое значение, норма, рассчитана диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, а также ожидаемая ценность использования.

### Результаты и обсуждение

**Иммунологический мониторинг замедленной консолидации костной ткани.** Условия регенерации костной ткани за последние годы изучены в экспериментальных и клинических исследованиях [8]. Выявлена роль общих и местных механизмов, обеспечивающих заживление повреждений [9]. Установлено, что сроки образования костной ткани определяются правильным лечением (выбором оптимального способа, своевременной репозицией фрагментов, длительной фиксацией) [2], состоянием организма, возрастом больного, сопутствующей патологией. Несмотря на это, в некоторых случаях восстановление костной ткани в области повреждения может замедляться, и одной из ключевых систем, влияющих на характер репаративного процесса, является иммунная, взаимосвязь которой с костной тканью в свете последних данных не вызывает сомнения [4].

Для определения условий проведения иммунологического мониторинга, то есть выявления иммунологических критериев прогнозирования замедленной консолидации кост-

ной ткани и установления сроков исследования, использовали сравнительный анализ данных больных при остеосинтезе повреждений нижней челюсти, позвоночника, длинных трубчатых костей и различном характере восстановления костной ткани (нормальном и замедленном).

Результаты исследования на примере нескольких сегментов скелета дали основание полагать, что существуют общие иммунологические механизмы контролирования регенерации костной ткани. Было установлено, что вне зависимости от наличия или отсутствия других осложнений (например, нагноения костной ткани) замедленная консолидация повреждений сопровождалась несколькими специфическими изменениями. Прежде всего, до операции у этих больных отмечалось снижение числа моноцитов. В послеоперационном периоде снижалось относительное количество иммунокомпетентных клеток: CD3+ – на 3 сутки после операции и CD19+ – на 10 сутки. Также на 10 сутки послеоперационного наблюдения увеличивалась продукция Ig M. Эти особенности нашли отражение в разработке прогностических тестов замедленной консолидации костной ткани. Изучение и анализ данных иммунологического исследования на основе теории Байеса позволили выделить иммунологические критерии прогнозирования замедленной

Таблица 2

Критерии прогнозирования замедленной консолидации в лечении повреждений костной ткани

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствительность, %	Специфичность, %	Ожидаемая ценность, %
<b>До операции</b>					
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	↓ 0,40	0,51-0,90	80,0	92,1	82,4
Ig M, г/л	↑ 2,4	0,9-2,3	85,4	94,6	87,3
СРБ, мг/л	↓ 5,0	6,0-17,0	79,2	81,2	83,2
<b>Ранний послеоперационный период</b>					
<b>3 сутки</b>					
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	↑ 6,9	4,0-6,8	92,3	80,1	93,1
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л	↑ 6,5	2,5-6,4	75,2	93,1	78,3
ЯИН	↑ 0,07	0,02-0,06	88,4	90,7	89,8
ЛИИ	↑ 2,4	0,5-2,3	91,4	94,6	96,4
CD3+, %	↓ 45,0	46,0-70,0	90,4	92,3	91,7
Лактоферрин, нг/мл	↓ 499	500-1500	81,3	88,4	86,2
ИЛ-1α, пг/мл	↑ 51,0	0-50,0	87,2	88,4	92,3
ИЛ-1ra, пг/мл	↑ 99,0	0-98,0	74,2	82,4	90,4
ИЛ-8, пг/мл	↑ 81,0	0-80,0	77,1	89,6	84,2
ФНО-β, пг/мл	↑ 51,0	0-50,0	92,0	90,9	94,1
<b>10 сутки</b>					
ИЛ СОЭ	↑ 1,9	1,1-1,8	81,3	92,7	94,1
CD19+, %	↓ 4,0	5,0-12,0	77,3	81,4	79,9
Ig M, г/л	↑ 2,7	0,9-2,6	87,7	88,3	89,5

ЯИН – ядерный индекс нейтрофилов, ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации, ИЛ СОЭ – индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ.

консолидации костной ткани, которые можно использовать в разные сроки до- и послеоперационного лечения (табл. 2).

**Иммунологический мониторинг незавершенной консолидации костной ткани.** У ряда обследованных больных при остеосинтезе повреждений позвоночника аппаратом внешней фиксации и переднем спондилодезе на основании клинико-рентгенологических данных был выявлен незавершенный остеогенез. У этих больных до операции фиксировались реактивные изменения лейкопоза: прежде всего, это нейтрофильная реакция с превышением показателей верхних границ нормы, а также увеличение некоторых лейкоцитарных индексов (ЛИИ, ИЛ СОЭ). Отмечалось снижение относительного количества лимфоцитов и эозинофилов, что характерно только для этого осложнения. Послеоперационный период характеризовался угнетением иммунных реакций. Отмечалось снижение числа фагоцитов, моноцитов и эозинофилов ( $p < 0,05$ ). Понижалась продукция иммуноглобулинов – Ig A и Ig M. На 3 сутки после спондилодеза наблюдалось снижение CD19+ клеток. Начиная с 10 суток постепенно снижалось количество CD3+ клеток. Динамика воспалительной реакции была снижена (по данным концентрации СРБ, альбумина, гаптоглобина,

цитокинов). Важно, что через месяц после спондилодеза наблюдалось увеличение числа эозинофилов, лимфоцитов и повышение ЛИА, что позволяло предполагать развитие гиперчувствительности на компоненты устройства внешней фиксации. В целом особенности динамики иммунологических показателей позволили на основании теории Байеса выделить критерии его прогнозирования и установить сроки исследования (табл. 3). Для каждого из предложенных критериев рассчитана диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность и ожидаемая ценность. Использование этих критериев позволяет прогнозировать незавершенную консолидацию костной ткани на разных этапах лечения (до операции, на 3 или 10 сутки после нее).

**Иммунологический мониторинг резорбции костной ткани.** Одним из наиболее трудных осложнений в лечении больных с костно-суставной патологией и, прежде всего, при эндопротезировании крупных суставов, является резорбция костной ткани. Полученные в результате исследования данные позволяют говорить о том, что при благоприятном исходе эндопротезирования на первом этапе отмечается реакция на хирургическое вмешательство (в среднем в течение 1 месяца после операции),

Таблица 3

Критерии прогнозирования незавершенной консолидации костной ткани

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствительность, %	Специфичность, %	Ожидаемая ценность, %
<b>До операции</b>					
Нейтрофилы, %	↑ 65,0	60,6-64,0	71,4	75,3	82,0
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л	↑ 5,50	4,04-5,49	78,1	77,2	81,3
Эозинофилы, %	1,0 и ↓	1,1-3,0	85,7	76,4	76,5
Лимфоциты, %	24,0 и ↓	25,0-32,0	71,4	78,2	73,2
ЛИИ*	↑ 1,19	0,74-1,18	90,1	78,2	92,2
ИЛ СОЭ*	↑ 1,72	0,94-1,71	80,3	84,6	86,8
ЛИА*	↓ 0,90	0,91-1,12	85,7	87,7	86,7
СРБ, мг/л	↓ 7,0	8,0-14,0	92,1	75,4	90,3
Фибриноген, г/л	↓ 5,0	3,2-4,9	93,2	91,4	92,6
Гаптоглобин, г/л	↑ 1,42	1,19-1,41	93,4	91,3	92,5
<b>Ранний послеоперационный период</b>					
<b>3 сутки</b>					
Эозинофилы, 10 <sup>9</sup> /л	↓ 0,12	0,13-0,17	72,5	80,1	81,7
Моноциты, %	5,0 и ↓	6,0-8,0	83,3	76,3	83,8
Ig A, г/л	↓ 1,52	1,53-2,33	81,4	79,6	80,7
Фибриноген, г/л	↓ 3,41	3,42-5,01	92,3	91,4	92,7
<b>10 сутки</b>					
СРБ, мг/л	↓ 4,0	5,0-22,0	86,7	74,5	88,6
Церулоплазмин, г/л	↓ 0,45	0,46-0,61	92,3	71,4	74,3

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации, ИЛ СОЭ – индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ, ЛИА – лейкоцитарный индекс алергизации.

на втором – ответ непосредственно на функционирующий имплантат (с шестого месяца после операции, когда разрешается полная нагрузка на оперированную конечность). Установлено, что в результате интенсивной работы эндопротеза возможно развитие гиперчувствительности на компоненты эндопротеза и металлоза, приводящих, в конечном итоге, к резорбции, нестабильности эндопротеза и необходимости ревизионной операции.

До операции у этих больных выявлены реактивные изменения крови и признаки активности воспалительного процесса, обусловленного, возможно, нарушенной иммунореактивностью (снижение количества фагоцитов и Ig G) (табл. 4). В послеоперационном периоде отмечалась лимфоцитарно-макрофагальная реакция с изменением продукции остеорезорбтивных факторов (ИЛ-1 $\beta$ ). Активность метаболических кислородонезависимых процессов нейтрофилов снижалась. В отдаленном

периоде регистрировалось вялотекущее воспаление (по данным содержания медленно реагирующих белков острой фазы). Перед развитием резорбции отмечались отличия в функционировании фагоцитарного и гуморального звеньев иммунной системы.

Возобновлялась воспалительная реакция, опосредованная ИЛ-1 $\beta$ . У всех больных в разной мере проявлялась реакция на компоненты имплантата: в ряде случаев отмечались эозинофилия, повышение уровня Ig E, высокие значения индекса алергизации, развивалась сенсibilизация к костному цементу и солям титана, входящим в состав имплантата. Изучение и анализ данных иммунологического исследования на основе теории Байеса позволили выделить иммунологические критерии прогнозирования резорбции костной ткани, которые можно использовать в разные сроки до- и послеоперационного лечения (табл. 4).

Таблица 4

Критерии прогнозирования резорбции костной ткани

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствительность, %	Специфичность, %	Ожидаемая ценность, %
<b>До операции</b>					
Эозинофилы, %	7,0 и $\uparrow$	1,0-6,0	74,0	75,2	75,2
ЛИА*	$\uparrow$ 1,0	0,8-0,9	68,7	75,8	92,2
Число фагоцитов, 109/л	2,20 и $\downarrow$	2,21-3,73	87,0	89,3	84,5
Ig G, г/л	9,6 и $\downarrow$	9,7-17,2	80,7	80,8	76,5
Ig E, МЕ/мл	125,0 и $\uparrow$	74,0-124,0	62,5	74,1	81,8
<b>Ранний послеоперационный период</b>					
<b>3 сутки</b>					
Нейтрофилы, 109/л	5,91 и $\uparrow$	4,68-5,90	75,3	81,1	81,7
Лимфоциты, 109/л	1,47 и $\uparrow$	1,34-1,46	66,7	76,9	80,2
Моноциты, 109/л	$\uparrow$ 0,38	0,29-0,37	69,1	70,6	83,8
Катионные белки, СЦК	1,44 и $\downarrow$	1,45-1,52	73,3	79,6	92,7
Ig G, г/л	10,0 и $\downarrow$	10,1-13,0	70,8	82,1	80,7
<b>10 сутки</b>					
Лимфоциты, 109/л	2,18 и $\uparrow$	1,66-2,17	71,6	76,0	88,6
Ig A, г/л	1,60 и $\downarrow$	1,70-3,19	86,3	86,8	74,3
Ig G, г/л	10,4 и $\downarrow$	10,5-16,01	84,4	89,1	83,4
<b>1 месяц</b>					
Ig G, г/л	13,0 и $\downarrow$	13,1-17,8	85,7	86,9	86,8
Ig E, МЕ/мл	$\uparrow$ на 100% от дооперационного		80,0	91,6	90,3
Реакция микропреципитации	Положительная	отрицательная	78,1	89,2	92,6
ЛИА*	1,02 и $\uparrow$	0,69-1,01	62,5	87,6	92,5
<b>6 месяцев после операции</b>					
Катионные белки, СЦК	$\downarrow$ 1,52	1,53-1,64	84,6	87,6	82,3
ИЛ-1в, пг/мл	191,2 и $\uparrow$	26,5-191,1	87,2	88,1	87,4

ЛИА – лейкоцитарный индекс алергизации.

**Выводы**

1. Иммунологический мониторинг нарушений регенерации костной ткани позволяет оценивать характер восстановительных процессов и обеспечивает прогноз остеогенеза.

2. Предложенные тесты могут эффективно использоваться при прогнозировании нарушений регенерации костной ткани вне зависимости от сегмента. Мониторинг показан при обследовании всех больных перед хирургическим лечением костно-суставного аппарата, в том числе при имплантации крупных суставов, особенно при наличии у них патологии (аутоиммунных, аллергических или хронических воспалительных заболеваний), а также при использовании новых типов протезов.

3. Выбор тестов для иммунологического мониторинга может осуществляться по желанию с учетом возможностей лабораторной службы, что позволяет использовать критерии прогнозирования в медицинских клиниках различного уровня (от крупных центров до небольших стационаров).

4. Параметры общего клинического исследования крови по диагностической ценности не уступают иммунологическим тестам в прогнозировании нарушений репаративных процессов костной ткани.

5. Прогнозирование можно осуществлять на разных сроках ведения больного: 3, 10 сутки, 1 и 6 месяцев, в том числе и на дооперационном этапе наблюдения, что позволяет проводить предоперационную коррекцию состояния с учетом выявленных отклонений.

6. Иммунологический мониторинг дает возможность делать заключения об эффективности предпринятых мер лечения.

**Литература**

- Божкова С.А. Прогностическая ценность лабораторных показателей при эндопротезировании тазобедренного сустава / С.А. Божкова, Е.Г. Мамаева, Е.М. Еропкина и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 10. — С. 30.
- Данилевич М.О. Тактика лечения пострадавших с сочетанной черепно-лицевой травмой / М.О. Данилевич, С.В. Марченко, Е.Н. Павлова // Вопросы стоматологии. — 2003. — № 4. — С. 17–18.
- Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика / Ю.М. Зарецкая. — М.: Медицина, 1983. — 208 с.
- Меленберг Т.В. Иммунологические аспекты несросшихся переломов нижней челюсти / Т.В. Меленберг, А.В. Жестков // Медицинская иммунология. — 2002. — Т. 4. № 2, — С. 156.
- Плигина Е.Г. Иммунологические критерии прогнозирования развития гнойно-воспалительных осложнений у детей с множественными и сочетанными травмами опорно-двигательного аппарата / Е.Г. Плигина, В.М. Розин, А.П. Продеус и др. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. — 2000. — № 2. — С. 49–55.
- Пхакадзе Т.Я. Организация и проведение микробиологического мониторинга в травматологии и ортопедии / Т.Я. Пхакадзе, Г.Г. Окропиридзе, Н.К. Вабищевич // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. — 2005. — № 3. — С. 77–83.
- Силантьева Т.А. Структурные и морфофункциональные особенности заживления переломов тазовой кости в ацетабулярной области без фиксации и в условиях внешней фиксации аппаратом спице-стержневого типа (экспериментальное исследование) / Т.А. Силантьева // Лечение повреждений и заболеваний таза. Новые технологии в лечении повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы: Тез. конф. — Екатеринбург, 2003. — С. 108–109.
- Шамсудинов А.Г. Результаты использования компрессионно-дистракционного метода для устранения дефектов и деформаций нижней челюсти / А.Г. Шамсудинов, Н.А. Рабухина, Н.В. Букатина // Стоматология. — № 4. — 2000. — С. 40–43.
- Шевцов В.И. Биохимические аспекты регуляции дистракционного остеогенеза / В.И. Шевцов, К.С. Десятниченко, О.П. Березовская и др. // Вестник РАМН. — 2000. — № 2. — С. 30–35.
- Pfitzner T. Quantitative molecular monitoring of residual tumor cells in chronic lymphocytic leukemia / T. Pfitzner, M. Reiser, S. Barth et al. // J. Ann. Hematol. — 2002. — Vol. 81. — P. 258–266.