УДК 616.71-001.58:616-097

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЗАМЕДЛЕННОЙ КОНСОЛИДАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

О.В. Бердюгина, К.А. Бердюгин

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава», ректор – засл. врач РФ, профессор д.м.н. С.М. Кутепов
ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1» МЗ СО, главный врач – засл. врач РФ, д.м.н. Ф.И. Бадаев
г. Екатеринбург

Исследования, включающие изучение клеточного, гуморального иммунитета, фагоцитоза, острофазовых белков, цитокинового статуса, проведены у пациентов с повреждениями лицевого скелета до и после стабильного остеосинтеза нижней челюсти аппаратом внешней фиксации (66 больных – с нормальной консолидацией, 17 – с замедленной). Результаты исследования позволили установить, что сменяющиеся стадии регенерации костной ткани (воспаление, пролиферация остеобластов, коллагеногенез и оссификация) сопровождаются изменениями иммунологического статуса. Сравнительное изучение динамики иммунологических показателей при нормальном и нарушенном остеогенезе выявило критерии замедленной консолидации костной ткани.

Ключевые слова: нарушения остеогенеза, иммунологические исследования.

The authors studied cellular and humoral immunity, phagocytosis, proteins of acute phase, cytokine status in patients with facial skeleton injuries before and after a stable external osteosynthesis of the lower jaw (66 patients – with normal consolidation, 17 – with delayed union). Results of research have allowed to establish that rotatory stages of bone regeneration (an inflammation, osteoblast proliferation, collagen synthesis and ossification) are accompanied by changes of immunologic status. Comparative study of dynamics of immunologic indexes at normal and abnormal osteogenesis has revealed criteria of the delayed bone consolidation.

Key words: delayed union, immunologic researches.

Введение

Регуляция остеогенеза при повреждении осуществляется сложным комплексом факторов, включающим механические условия для формирования полноценного регенерата, сосудистые реакции, влияние нейро-эндокринной системы, действие метаболитов и ростовых факторов [20]. Отражением происходящих процессов становится динамика показателей крови, среди которых наиболее важными являются изменения 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 CD4+ и CD8+ [2]. Нейтрофилы оказывают влияние на коллагеногенез и ремоделирование внеклеточного матрикса путем продукции факторов, активирующих фибробласты [1]. Лактоферрин, являющийся важным регулятором деятельности остеоцитов, увеличивает формирование кости *in vivo* [17]. Метаболизм костной ткани при повреждении обеспечивают многочисленные цитокины: IL-1 (интерлейкин), IL-3, IL-4, IL-6, IL-11, TNF-α (фактор некроза опухолей), TNF-β, колониестимулирующие факторы, лейкоз-ингибирующий фактор, INF-γ (интерферон), TGF-β (трансформирующий фактор роста) [19, 20]. Не вызывает сомнения тот факт, что изучение иммунологических реакций крови у больных с повреждением костной ткани позволит оценить взаимосвязь их с течением остеогенеза и найти полученным результатам практическое применение. Таким образом, актуальным представляется исследование значения иммунологических реакций при регенерации кости для прогнозирования осложнений остеогенеза.

Материал и методы

Исследования проведены у пациентов с повреждениями лицевого скелета (давность травмы составила в среднем 12±3 суток) до и после стабильного остеосинтеза нижней челюсти 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 – 20 000 единиц на 1 мл крови и 5% 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 определяли 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 Гренхему-Кноллю [6], результат выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по Kaplow [18]. 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 (иммуноферментного анализа) на планшетах с использованием наборов реагентов «Лактоферрин-стрип» (фирма «Вектор-Бест», Новосибирск). Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов A, M, G определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре (производитель – НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва), Активность лизоцима оценивали гельдиффузионным методом по способности лизировать тест-культуру *M. lysodeikticus* [13], функциональное состояние системы комплемента – методом 50% гемолиза [12]. Содержание цитокинов (IL-1α, 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 BioSourse International (США) на иммуноаналитическом оборудования Stat Fax (Awaress Technology Inc.). Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) определяли методом латекс-агглютинации (тест-система Biocon, Germany), церулоплазмина – по Раввину [5]. Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики и модифицированной теоремы Т. Байеса [8], используя программу «STATISTICA» (StatSoft, USA) версия 6.0. 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

В качестве модели для изучения динамики иммунологических показателей при нормальном и осложненном остеогенезе использовали исследование лабораторных показателей у пациентов

с повреждениями лицевого скелета. Травмы 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 консолидации костной ткани

До операции, наряду с небольшим увеличением относительного количества CD3+, CD19+ клеток, выявлено повышение продукции Ig A и Ig M последними. Наблюдалось также снижение активности кислородозависимых (NBT-тест) и кислородонезависимых (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 церулоплазмина и активности комплемента, что свидетельствовало о наличии острого воспалительного процесса.

На 10 сутки после операции количество моноцитов увеличивалось на 27,8% ($p<0,05$) в сравнении с дооперационным уровнем, а через 1 месяц количество лимфоцитов возрастало на 13,8% ($p<0,05$), популяционный состав лимфоцитов не менялся. 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, в этот же период отмечалось снижение концентрации Ig M на 37,9% ($p<0,05$) с последующим восстановлением его уровня в крови. 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-1α ($p<0,05$), активатора начальных этапов иммунного ответа, 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. Концентрации IL-1α и IL-1ra увеличивались соответственно в 28,4 раза и 17,3 раза к 10 суткам наблюдения в сравнении с дооперационными значениями (табл. 1).

Похожая динамика была характерна и для TNF-α ($p<0,05$), обладающего сходными с IL-1 флогогенными 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. 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 ($p<0,05$).

Таблица 1

Иммунологические показатели при регенерации костной ткани

Показатели	Нормальные значения	Сроки				
		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*
Ig A, 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
Ig M, 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
Ig G, 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
CH50	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
TNF-α, 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.

Особенности реакции крови при замедленной консолидации нижней челюсти

В данной подгруппе до операции выявлены отличия иммунологических показателей от данных, полученных при нормальной консолидации костной ткани, не осложнявшейся остеомиелитом. Количество моноцитов 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; активность комплемента составляла всего лишь 30,2% от нижней границы нормы и была ниже в 4,2 раза ($p<0,05$), чем в группе с нормальной регенерацией костной ткани. Повышенная на 37,4% концентрация Ig M ($p<0,05$) также превышала на 49% нормальные значения. Функциональная активность CD3+ клеток была повышена более чем в 3,5 раза ($p<0,05$) – отличия зафиксированы в реакции торможения миграции лейкоцитов. Уровень сывороточного лизоцима был снижен в 5,8 раза. Интересно, что концентрация рецепторного антагониста IL-1ra была ниже концентрации IL-1α, что не отмечалось у больных с нормальной консолидацией костной ткани. Уровень IL-8 был снижен в 1,8 раза ($p<0,05$) в сравнении с больными из другой группы.

Послеоперационный период характеризовался активацией лейкопоэза (нейтрофильный лейкоцитоз с ядерным сдвигом). На 3 сутки выявлено снижение числа Т-клеток (по динамике CD3+) на 40,8% ($p<0,05$), восстановление популяции которых произошло к 10 суткам, что подтверждает ранее опубликованные данные [9]. 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 относительного количества В-клеток (CD19+) на 55,6% ($p<0,05$) наблюдалось несколько позже – на 10 сутки.

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

Замедленное формирование костной ткани сопровождалось достоверным, на 72%, увеличением уровня Ig M. Воспалительная реакция характеризовалась выраженной динамикой медленно реагирующих острофазовых белков. В частности, концентрация церулоплазмина 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. 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. Динамика цитокинов также отличалась: на 3 сутки после операции значительно, а именно более, чем в 11 раз ($p<0,05$), возрастала концентрация IL-1α, одного из стимуляторов остеокластов, однако сходные изменения наблюдались и у больных с нормальной регенерацией костной ткани. Скорее всего, в нарушении регенерации важную роль играло соотношение между уровнем IL-1α и IL-1ra после операции (на 10 сутки), когда у больных с нормальной консолидацией костной ткани оно было равным, а при замедленной – уровень IL-1ra был почти в 2 раза ниже концентрации IL-1α.

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 Ig A был ниже на 35,3% ($p<0,05$), концентрация Ig M и Ig G – в 2 раза ($p<0,05$) в сравнении с результатами у больных при нормальной регенерации костной ткани (табл. 2). Отмечалось также

Таблица 2

Иммунологические показатели при замедленном остеогенезе

Показатели	Сроки наблюдения				
	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*#
Ig A, г/л	2,48± 0,41	2,59± 0,19	2,46± 0,15	2,06± 0,21#	2,68± 0,31
Ig M, г/л	3,12± 0,38#	1,05± 0,19*	2,80± 0,25#	0,78± 0,13*#	2,86± 0,34
Ig G, 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*
CH50	12,07± 1,18#	44,93± 2,51*	13,46± 1,49#	44,03± 2,66*	44,07± 2,37*
IL-1α, 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.

снижение активности миелопероксидазы на 34,8% ($p<0,05$) и концентрации лизоцима в 2 раза ($p<0,05$). Через 1 месяц после операции уровень рецепторного антагониста IL-1 был выше концентрации IL-1α, а содержание TNF-α было увеличено в 2,5 раза ($p<0,05$), при этом функциональная активность CD3+ клеток, 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 сохраняются в высоких концентрациях – 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, функционально-метаболическая активность нейтрофилов нормализовалась (см. табл. 2).

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

и находился в диапазоне 84,2–97,5%. Совместное использование двух и более прогностических показателей позволяет повысить диагностическую ценность тестов на 3–4%, что дает более широкие возможности клиницисту в прогнозировании замедленного костеобразования.

Заключение

Проведенное исследование позволило установить, что сменяющиеся стадии регенерации костной ткани (воспаление, пролиферация остеобластов, коллагеногенез и оссификация) сопровождаются изменениями иммунологического статуса. При замедленной консолидации костной ткани выявлены отличия реагирования отдельных звеньев иммунной системы. Сравнительное изучение динамики иммунологических показателей при нормальном и нарушенном остеогенезе позволило установить критерии замедленной консолидации костной ткани. До операции к ним относятся: 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.

Таблица 3

Критерии прогнозирования замедленной консолидации костной ткани при лечении повреждений нижней челюсти

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствительность	Специфичность	Информативность тестов
До операции					
Ig M, 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-α, пг/мл	↑ 51,0	0-50,0	92,0%	90,9%	94,1%
10 сутки					
CH50	↓ 36,0	37,0-54,0	91,5%	93,0%	92,6%
Ig M, г/л	↑ 2,7	0,9-2,6	87,7%	88,3%	89,5%

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

Литература

1. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург : изд-во УрО РАН, 2001. – 277 с.
2. Жеклов, А.Н. Изменения иммунитета и факторов неспецифической защиты у пострадавших от тяжелой механической политравмы / А.Н. Жеклов, С.В. Петленко, Е.Г. Богданова, Т.В. Парфилова // Мед. иммунология. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 327–328.
3. Кетлинский, С.А. Иммунология для врача / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина. – СПб. : Гиппократ, 1998. – 156 с.

4. Клиническая лабораторная аналитика. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории / под ред. В.В. Меньшикова. — М. : АгатМед, 2003. — Т. IV. — 816 с.
5. Колб, В.Г. Справочник по клинической биохимии / В.Г.Колб, В.С. Камышников. — Екатеринбург,1982. — 290 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая; под ред.В.В. Меньшикова. — М. : Медицина, 1987. — 368 с.
7. Лившиц, В.М. Лабораторные тесты у здоровых людей (референтные пределы) : справочник / В.М. Лившиц, В.И. Сидельникова. — М. : Триада-Х, 2004. — 128 с.
8. Медик, В.А. Статистика в медицине и биологии / В.А. Медик, М.С. Токмачев, Б.Б. Фишман; под ред. Ю.М. Комарова : руководство : в 2 т. — М. : Медицина, 2000. — Т. 1. Теоретическая статистика. — 412 с.
9. Меленберг, Т.В. Иммунологические аспекты несросшихся переломов нижней челюсти / Т.В. Меленберг, А.В. Жестков // Мед. иммунология. — 2002. — Т. 4, № 2. — С. 156.
10. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях : методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения, разработанные сотрудниками Минздрава России / МЗ РФ; 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 / В.Е. Пигаревский. — М. : Медицина, 1978. — 128 с.
12. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях / В.Н. Федосеева [и др.]. — М. : Промедэк, 1993. — 320 с.
13. Стандартизация определения активности лизоцима методом диффузии в агаровом геле / К.К. Федорцов, С.Н. Кузьмин, Н.Н. Козлова, Б.Б. Першин // Лабораторное дело. — 1981. — № 12. — С. 735—736.
14. Тица, Н.У. Энциклопедия клинических и лабораторных тестов / Н.У. Тица ; под ред. В.В. Меньшикова : пер. с англ. — М. : Лабинформ, 1997. — 942 с.
15. Тотолян, А.А. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека.Часть 1. Доаналитический этап. Часть 2. Метод непрямой иммунофлюоресценции / А.А. Тотолян, И.А. Балдуева, Л.Н. Бунова [и др.] // Клин. лабораторная диагностика. — 2001. — № 8. — С. 31—38.
16. Шатров, В.А. Изучение способности моноцитов больных туберкулезом легких восстанавливать нитросиний тетразолий при фагоцитозе частиц латекса / В.А. Шатров, Л.В. Кузнецова, Т.И. Беляновская // Лабораторное дело. —1985. — № 7. — С. 408—410.
17. Cornish, J. Lactoferrin promotes bone growth / J. Cornish // J. Biometals. — 2004. — Vol. 17. — P. 331—335.
18. Kaplow, L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow / L.S. Kaplow // J. Blood. — 1955. — Vol. 10. — P. 1023—1029.
19. Kobayashi, Y. Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor beta and osteoprotegerin expression / Y. Kobayashi, F. Hashimoto, H. Miyamoto // J. Bone Miner. Res. — 2000. — Vol. 15. — P. 1924—1934.
20. Lorenzo, J.A. Interactions between immune and bone cells: new insights with many remaining questions / J.A. Lorenzo // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 106. — P. 749—752.
21. Partanen, J. Characteristics of lifetime factors, bone metabolism, and bone mineral density in patients with hip fracture / J. Partanen, J. Heikkinen, T. Jamsa, P. Jalovaara // J. Bone Mineral Metab. — 2002. — Vol. 20, N 6. — P. 367—375.

Контактная информация: Бердюгина Ольга Викторовна, к.б.н.
e-mail: berolga73@rambler.ru

IMMUNOLOGIC CRITERIA OF PREDICTION OF BONE DELAYED UNION

O.V. Berdyugina, K.A. Berdyugin