

## **Комплексная оценка иммунограммы пациентов с открытыми повреждениями конечностей в послеоперационном периоде при лечении аппаратом внешней фиксации**

**И.И. Мартель, О.Л. Кармацких**

### **Complex assessment of the immunogram of patients with open limb injuries in the postoperative period in case of their treatment with a device for external fixation**

**I.I. Martel, O.L. Karmatskikh**

Федеральное государственное учреждение  
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган  
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Проведена комплексная оценка иммунограмм пациентов с открытыми повреждениями конечностей в послеоперационном периоде. Обследованы четыре группы: здоровые доноры (I), пациенты с нормальным заживлением переломов длинных костей (II), с замедленной консолидацией (III) и с гнойно-некротическими осложнениями (IV). Показаны различия между группами по параметрам гемограммы, иммуноглобулинограммы и клеточной иммунограммы, которые могут быть использованы для объективизации процесса заживления и диагностики осложнений.

Ключевые слова: иммунограмма, открытые повреждения скелета, замедленная консолидация, гнойно-некротические осложнения.

Complex assessment of the immunograms of patients with open limb injuries in the postoperative period has been made. Four groups were examined: healthy donors (I), patients with normal healing of long bone fractures (II), those with delayed consolidation (III) and those with pyo-necrotic complications (IV). The differences between the groups are demonstrated by the parameters of hemogram, immunoglobulinogram and cell immunogram, which can be used for objectification of healing process and complication diagnostics.

Keywords: immunogram, open skeletal injuries, delayed consolidation, pyo-necrotic complications.

В настоящее время все больше внимание исследователей привлечено к проблеме обследования больных с открытыми повреждениями скелета для оптимизации их лечения [1, 2, 3]. Одним из перспективных и многообещающих подходов в этом направлении является изучение иммунного статуса пострадавших и последующая обоснованная иммунокоррекция выявленных нарушений [4]. В проведенных ранее исследованиях отмечены разнонаправленные изменения показателей как клеточного, так и гуморального иммунитета у пациентов с открытыми повреждениями конечностей, леченых

методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову. Сделан также анализ зависимости изученных показателей от характера клинического течения послеоперационного периода [5], где показаны причинно-следственные связи между наличием инфекционных осложнений и нарушениями в иммунном статусе пациентов.

Целью данной работы было сравнить показатели иммунограммы больных с открытыми переломами конечностей, леченных по методу Илизарова, с разными вариантами течения послеоперационного периода, и иммунограммы здоровых доноров.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках предлагаемого исследования ретроспективно изучены показатели иммунофенотипирования и иммуноглобулинограммы здоровых доноров и трех групп пациентов: I группа (n=10) – здоровые доноры, II группа (n=8) – пациенты с нормальным заживлением открытых переломов длинных костей (преимущественно голени), III группа (n=10) – пострадавшие с открытыми повреждениями костей конечностей,

замедленной репарацией ран и нарушением процесса консолидации переломов и IV группа (n=10) – аналогичные повреждения, сопровождающиеся гнойно-некротическими осложнениями. Все обследованные были лица молодого и среднего возраста: доноры от 26 до 56 лет, пациенты от 21 до 53 лет. Исследование иммунного статуса было проведено однократно в сроки 1-3 дня после операции. Сравнительный анализ про-

водился между группами больных (при этом сравнивали отдельно III группу со II и IV группу также со II) и каждую группу больных с группой здоровых доноров. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови, взятой натощак из *v. cubitalis*, осуществляли на лазерном проточном цитофлюориметре «Beckman Coulter EPICCS XL» с помощью двойных меченых анти-тел «Immunotec» (Франция).

Использовали традиционную панель основных CD-маркеров: CD3+CD19-, CD3-CD19+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD16+CD56+,

CD3+CD16+CD56+, HLA-DR.

Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М и G определяли иммуноферментным методом на тест-системах производства «Вектор-Бест». Для адекватной комплексной оценки клеточного иммунного статуса исследовали также показатели гемограммы: количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона (программа «AtteStat», И.П. Гайдышев, 2003 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Начальным этапом комплексного иммунологического исследования является оценка гемограммы (табл. 1).

Показатели гемограммы не различались в группах здоровых лиц и пациентов с нормальным заживлением переломов за исключением относительного содержания моноцитов: оно было меньше у пациентов II группы по сравнению с донорами и составило 3,5±0,45 %, в то время как у доноров этот показатель был 5,2±0,72 %. В двух других группах процентное содержание моноцитов в формуле крови не отличалось от значения доноров и составило в III группе 5,0±0,76 %, а в IV – 5,0±0,86 %. Максимальные изменения в гемограмме наблюдались в III группе пациентов: у них наблюдались достоверно различный от здоровых показатель количества лейкоцитов и достоверно различные от значений пациентов II группы количество эритроцитов и процентное содержание нейтрофилов (табл. 1). Что касается IV исследуемой группы пациентов, в их гемограмме различным по сравнению как со здоровыми донорами, так и с пациентами II группы был только показатель лейкоцитов. Он составил 5,6±0,67×10<sup>9</sup>/л, что было достоверно выше, чем во II группе и выше,

чем в I. Показатель лимфоцитов достоверно не различался в исследуемых группах пациентов и доноров и колебался в пределах 27±3,5 % во II группе до 34±2,0 % в III группе, что не отличалось от нормы.

При анализе иммуноглобулинограммы пациентов всех четырех исследуемых групп были выявлены достоверные различия значений показателя концентрации IG A в IV группе пациентов. Данный показатель достоверно различался в сравнении и с I и со II группой и составил 3,43±0,59г/л (табл. 2). Этот факт привлек наше внимание, так как, по мнению В.В. Базарного [6], гипериммуноглобулинемия А выше 3,5 г/л является неблагоприятным фактором для дистракционного костеобразования, а значения концентрации IG A в IV исследуемой группе весьма близки к предлагаемому критическому значению.

Относительные показатели клеточной иммунограммы не различались между группами. Исключение составило процентное значение натуральных киллеров, которое достоверно различалось между II группой и группой здоровых доноров и между III группой и группой здоровых доноров.

Таблица 1

Показатели гемограммы сравниваемых групп больных и здоровых доноров

Показатели	Доноры (N=10)	Нормальное заживление (N=8)	Замедленная консолидация (N=10)	Гнойно-некротические осложнения (N=10)
Эритроциты	4,5±0,5	2,9±0,25	3,61±0,16** (P=0,02)	3,9±0,69
Лейкоциты	5,07±0,31	7,3±1,17	6,83±0,63*(p=0,02)	5,6±0,67*** (p=0,04)
Нейтрофилы	62±1,19	65,8±2,3	59,8±2,34** (p=0,04)	63,8±2,2
Лимфоциты	32,8±1,6	27±3,5	34,5±2,0	30,3±2,0
Моноциты	5,2±0,72	3,5±0,45*(p=0,02)	5±0,76	5±0,86

Таблица 2

Иммуноглобулинограмма сравниваемых групп больных и здоровых доноров

Класс IG	Доноры (N=10)	Нормальное заживление (N=8)	Замедленная консолидация (N=10)	Гнойно-некротические осложнения (N=10)
A (г/л)	1,73±0,34	2,44±0,63	2,14±0,47	3,43±0,59*** (p=0,02)
M (г/л)	1,56±0,72	2,07±0,4	1,55±0,3	1,8±0,39
G (г/л)	14,7±2,37	13,96±2,4	15,02±2,5	15,2±2,6

Примечание к таблицам 1 и 2: \* – по сравнению со здоровыми донорами; \*\* – по сравнению с группой больных с нормальным заживлением переломов длинных костей.

Повышенный показатель натуральных киллерных клеток (или больших гранулярных лимфоцитов, согласно морфологической терминологии) отмечен в ранее опубликованных трудах, где отмечается их существенная роль при чрескостном остеосинтезе [7]. По результатам наших исследований, в группах III и IV этот показатель был ниже, чем в I и II группах, что противоречит ранее опубликованным данным, хотя дизайн исследования в работах, в которых они приводятся, был другим, то есть эти различия могут объясняться различными сроками обследования. Эта популяция лимфоцитов осуществляет широкий спектр биологических потенций по регуляции цитодифференцировки и элиминации клеток, пораженных патогенами без предварительной иммунизации [8]. Патогенетическое значение этих клеток далеко не исчерпывается эффектами прямого киллинга экзо- и эндогенных патогенов, а, возможно, они, наряду с В-лимфоцитами [9], регулируют процессы костеобразования, механизм которых на данном этапе исследования не доступен для изучения.

Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) не различался во всех исследуемых группах, но имела место тенденция к его снижению параллельно степени тяжести течения послеоперационного процесса. Как видно из таблицы 3, у доноров ИРИ составил  $2,02 \pm 0,2$ , во II группе –  $2,14 \pm 0,2$ , в III –  $1,99 \pm 0,15$  и в IV группе –  $1,77 \pm 0,24$ .

При анализе абсолютных значений показателей иммунограммы были выявлены достоверные различия между III и I группами по показателям: количество Т-лимфоцитов (CD3+CD19-),

количество В-лимфоцитов (CD3-CD19+), количество лимфоцитов-хелперов (CD3+CD4+), количество цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+), а также, как и в относительных значениях, показатель натуральных киллерных клеток (CD3-CD16+CD56+) (табл. 4). При сравнении же показателей клеточной иммунограммы пациентов IV группы и II группы выявлены достоверные различия в значениях субпопуляции хелперов и маркеров поздней активации HLA-DR. Они были достоверно ниже у пациентов с гнойно-некротическими осложнениями в сравнении с пациентами с нормальным заживлением переломов конечностей. Абсолютный показатель натуральных киллерных клеток достоверно различался в группах IV и I. Обращает на себя внимание и факт достоверного увеличения абсолютного количества HLA-DR во II исследуемой группе (табл. 4).

Интересное наблюдение нами было сделано при анализе иммунограмм больных с политравмой и нормальным заживлением переломов, которые не вошли ни в одну из исследуемых групп. Таких наблюдений было два. Одно из них мы приводим в качестве клинического примера.

Больной Ч., 48 лет. Диагноз: политравма; открытый оскольчатый перелом диафиза костей правой голени (ШВ тип по классификации А.В. Каплана и О.Н. Марковой), обширное повреждение мягких тканей правой голени, перелом костей стопы; закрытый перелом наружной лодыжки левой голени; черепно-мозговая травма; подагра; гипертоническая болезнь.

Таблица 3  
Клеточная иммунограмма сравниваемых групп больных и здоровых доноров, (относительные значения)

Показатели	Доноры (N=10)	Нормальное заживление (N=8)	Замедленная консолидация (N=10)	Гнойно-некротические осложнения (N=10)
CD3+CD19-	71,6511,77	71,03±2,9	76,73±3,3	67,2±7,0
CD3+CD4+	46,6±2,9	46,4±2,6	47,25±2,8	41,0213,4
CD3+CD8+	22,75±3,6	22,7±2,2	27,9±3,6	26,25±3,9
CD3-CD19+	8,05±1,2	9,7±1,3	12,3±2,1	11,7±2,0
CD3+CD16+CD56+	6,65±0,5	7,7±1,2	7,1±1,1	6,7±1,7
CD3-CD16+CD56+	17,3±2,3	14,8±3,05	8,85±1,4*(p=0,002)	10,23±2,4*(p=0,047)
HLA-DR+	2,9±0,6	3,1±0,8	2,24±1,07	1,7±0,29
ИРИ	2,02±0,2	2,14±0,2	1,99±0,15	1,77±0,24

\*- по сравнению со здоровыми донорами

Таблица 4  
Клеточная иммунограмма сравниваемых групп больных и здоровых доноров, (абсолютные значения)

Показатели	Доноры (N=10)	Нормальное заживление (N=8)	Замедленная консолидация (N=10)	Гнойно-некротические осложнения (N=10)
CD3+CD19-	1237±50,6	1433±244	1788±195*(p=0,014)	1091±151
CD3+CD4+	803±29,9	904,2±126	1081±105*(p=0,006)	665,1±53**(p=0,04)
CD3+CD8+	396±71	462,6±89	666,5±126*(p=0,03)	451,3±99,6
CD3-CD19+	138±19,1	200,3±43,7	289,7159,2*(p=0,011)	181,7±29
CD3+CD16+CD56+	115,5±11	181±41	155,2±21	119±34
CD3-CD16+CD56+	300,5±43,4	339,6±94	197,7±32*(p=0,04)	127,5±30*(p=0,004)
HLA-DR+	50,2±12,4	59,5117*(p=0,04)	50,9±24,3	28,77±5,6**(p=0,04)

\*- по сравнению со здоровыми донорами

\*\*-по сравнению с группой больных с нормальным заживлением переломов длинных костей.

При поступлении произведен остеосинтез правой голени с репозицией многооскольчатого перелома и стабильной фиксацией костных фрагментов с созданием благоприятных условий для заживления ран мягких тканей (рис. 1, 2).

В послеоперационном периоде проводилась противовоспалительная терапия, сосудистая терапия, направленная на улучшение микроциркуляции, иммунокорректирующее и физиофункциональное лечение, симптоматическое лечение подагры и гипертонической болезни. Срок фиксации – 4 месяца, достигнута консолидация отломков в правильном положении (рис. 2). В иммунограмме обращает на себя внимание высокий иммунорегуляторный индекс – 3,82, который увеличился за счет значительного снижения

CD3+CD8+-субпопуляции цитотоксических лимфоцитов до 15,6 %, при этом относительный показатель Т-лимфоцитов-хелперов незначительно был повышен до 59,6 % при верхней границе нормы 53 %. Процент натуральных киллерных клеток с фенотипом CD3-CD16+CD56+ был низким – 6,9 % (при норме 8-18 %). Гуморальный иммунный статус без особенностей: IgA=0,88 г/л, IgM=1,1 г/л, IgG=7,38 г/л. Из анамнеза дополнительно выявлено, что больной придерживался особой белковой диеты с высоким содержанием лектинов. Проведен контрольный осмотр через 5,5 месяцев после снятия аппарата. Заключение: полное анатомическое и функциональное восстановление конечности (рис. 3).

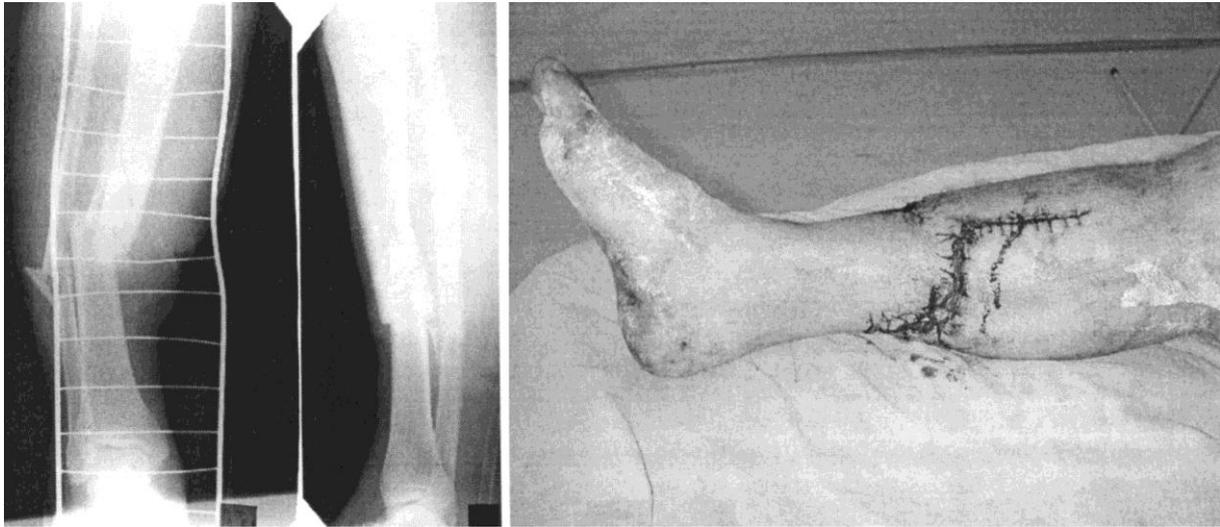


Рис. 1. Рентгенограммы и голень больного Ч. при поступлении

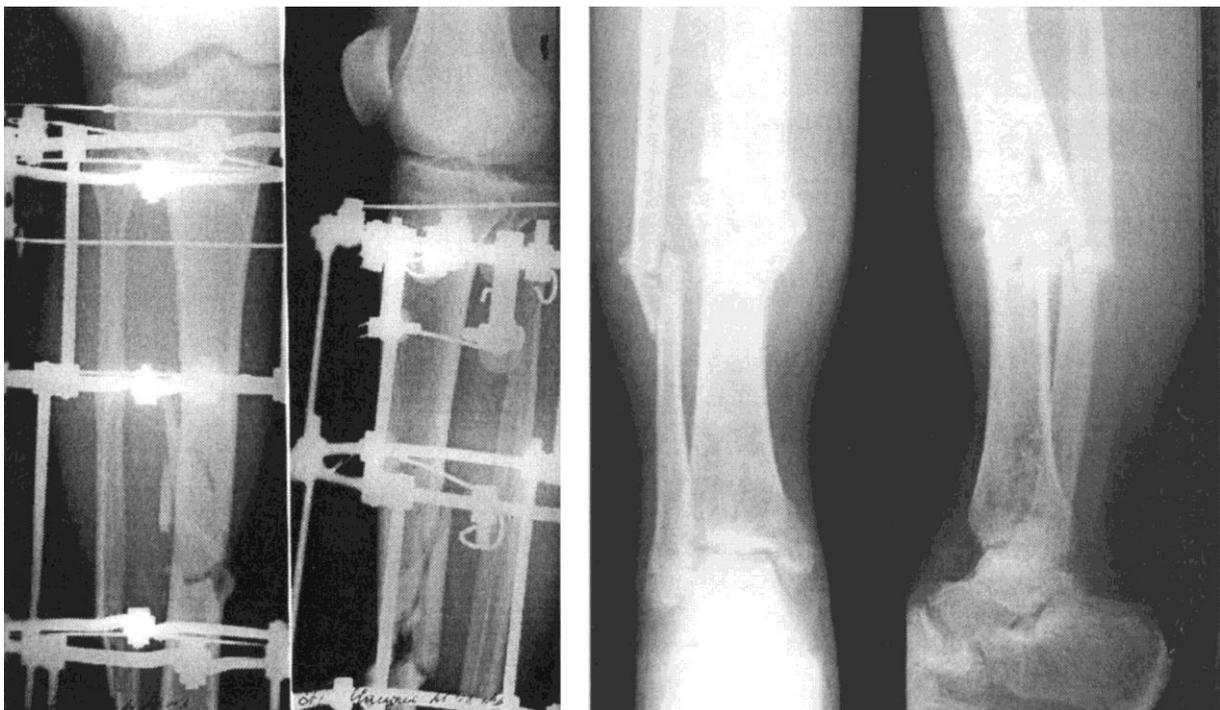


Рис. 2. Рентгенограммы больного Ч. после остеосинтеза голени аппаратом Илизарова



Рис. 3. Рентгенограммы больного Ч. через 5 месяцев после снятия аппарата

Таким образом, данное исследование показывает, что при замедленной консолидации открытых переломов конечностей по данным комплексной иммунограммы с использованием результатов иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови отмечается повышение в периферической крови абсолютного количества лейкоцитов, абсолютного количества Т-лимфоцитов общих, Т-лимфоцитов-хелперов цитотоксических Т-лимфоцитов, а также снижение натуральных киллеров. При гнойно-некротических осложнениях наблюдается снижение относительного и абсолютного количества натуральных киллеров, а также снижение абсолютного значения Т-лимфоцитов-хелперов и HLA-DR-позитивных лимфоцитов. Для нормального течения заживления переломов конечностей характерно достоверное отличие моноцитов в формуле крови и повышение абсолютного показателя HLA-DR+клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Котельников, Г. П. Математическое моделирование функциональных процессов иммунной системы и гемостаза при травматической болезни / Г. П. Котельников, И. Г. Чеснокова // Травматол. и ортопед. России. - 2002. - № 1. - С. 56-59.
2. Герасимов, А. А. Динамика показателей системы иммунитета в клинике острой травмы / А. А. Герасимов // Медицинская иммунология. - 2002. - № 2. - С. 145.
3. Труханова, И. Г. Различия изменений функционирования иммунной системы у больных травматической болезнью при консервативном и оперативном лечении переломов / И. Г. Труханова // Иммунология. - 2004. - № 2. - С. 103-109.
4. Лебедев, В. Ф. Иммунопатогенез тяжелых ранений и травм: возможности иммунокоррекции / В. Ф. Лебедев, В. К. Козлов, С. В. Гаврилин // Вестн. хирургии. - 2002. - № 4. - С. 85-90.
5. Особенности иммунного статуса у пациентов с открытыми переломами при лечении методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову / И. И. Мартель [и др.] // Бюллетень ВСНЦ. - 2002. - Т. 2, № 6. - С. 52-57.
6. Базарный, В. В. Лабораторный мониторинг дистракционного костеобразования / В. В. Базарный // Клиническая лабораторная диагностика. - 1999. - № 6. - С. 16-17.
7. Базарный, В. В. Механизмы макрофагально-лимфоцитарной регуляции дистракционного остеогенеза / В. В. Базарный, А. В. Осипенко // Гений ортопедии. - 1996. - № 2-3. - С. 125.
8. Сепиашвили, Р. И. Естественные киллеры и их рецепторы, специфичные к МНС-I / Р. И. Сепиашвили, И. П. Балмасова // Иммунология. - 2006. - № 1. - С. 46-51.
9. Role of B-Lymphocytes in New Bone Formation / A. Marusic [et al.] // Laboratory Investigation. - 2000. - Vol. 80, No 11. - P. 1761-1774.

Рукопись поступила 15.09.06.