

© Группа авторов, 2007

Динамика уровня ИЛ-8, ГМ-КСФ и оценка кислородозависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов и моноцитов в НСТ-тесте у больных с дегенеративно дистрофическими заболеваниями до и после операции эндопротезирования тазобедренных суставов

Е.В. Маркелова, Р.В. Винчель, И.И. Кузьмин*

The dynamics of the level of IL-8, GM-KSF and the estimation of the oxygen-dependent mechanisms of neutrophil and monocyte bactericidal action in NBTS-testing patients with degenerative diseases (DD) before and after endoprosthetic surgery of the hips

E.V. Markelova, R.V. Vinchel, I.I. Kuzmin

ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава»,
*Приморский краевой центр ортопедии и эндопротезирования, г. Владивосток, Россия

Приведен анализ исследования концентрации цитокинов провоспалительного ИЛ-8 и регуляторного действия ГМ-КСФ, а также оценка кислородозависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов и моноцитов в НСТ-тесте у больных дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава до операции и 3-кратно - после операции эндопротезирования (на 1-е, 5-е, 14-е сут.). Выявлено, что нарушение баланса цитокинов является важным механизмом в патогенезе заболевания. Послеоперационный период при эндопротезировании тазобедренного сустава протекает с выраженным дисбалансом ИЛ-8, ГМ-КСФ и нарушением механизмов бактерицидности нейтрофилов и моноцитов.

Ключевые слова: цитокины, тазобедренный сустав, эндопротезирование.

The article deals with analyzing the cytokine concentration of proinflammatory IL-8 and regulatory GM-KSF actions, as well as estimating the oxygen-dependent mechanisms of neutrophil and monocyte bactericidal action in the process of NBTS-testing patients with the hip degenerative diseases before endoprosthetic surgery and three times – after it (on 1, 5, 14 day). Cytokine dysbalance has been revealed to be an important mechanism in the disease pathogenesis. The postoperative period during the hip endoprosthetics is accompanied by marked dysbalance of IL-8, GM-KSF and disorder of the mechanisms of neutrophil and monocyte bactericidal action.

Keywords: cytokines, the hip (joint), endoprosthetics.

Операцию эндопротезирования тазобедренных суставов можно рассматривать как тяжёлую операционную травму, приводящую к формированию иммунологической недостаточности. Ее степень определяется величиной кровопотери, эндотоксемии, выработкой гормонов, нейропептидов, цитокинов, обменными нарушениями.

Показано, что типичным для данной операции является стимуляция гуморального иммунного ответа на фоне функциональной неполноценности клеточной кооперации, проявляющейся снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов [1, 2]. Каждый хирургический больной подвергается воздействию общей и местной анестезии. Наибольшее депримирующее влияние на иммунитет оказывает ингаляционный анестетик фторотан. Он значительно снижает пролиферативную активность лимфоцитов в ответ на митогены. Фторотан и (в меньшей степени) эфир и закись азота снижают количество Т-клеток [5]. Иммунодепрессивное

действие оказывают гепарин и непрямые антикоагулянты [2]. Степень постоперационной иммуносупрессии резко возрастает у больных с исходно сниженной иммунологической реактивностью. Всё это требует тщательной оценки иммунологических параметров в процессе предоперационной подготовки.

Большинство исследователей считают, что на ранних этапах оперативное вмешательство вызывает активацию Th2 и синтез цитокинов, оказывающих супрессивный эффект на клеточный иммунитет [1-3]. Это приводит к снижению функциональной активности Th1 и фагоцитирующих клеток и является одной из главных причин развития хирургических инфекций. Существенная роль в этом принадлежит ГМ-КСФ и ИЛ-8 [4, 5]. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) является крайне важным цитокином для миелопоэза вообще и формирования клеток иммунной системы. Биологическое действие ГМ-КСФ заключается в стимуляции

роста и обеспечении дифференцировки миело-моноцитарной линии развития [6, 7].

Интерлейкин-8 (ИЛ-8) относится к группе хемокинов, основное свойство которых обеспечивать хемотаксис в зону воспаления различных типов клеток: нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток [3, 4, 10]. Это небольшой гликопротеин с мол. весом 8,8 кД, включающий 72 аминокислотных остатка. Пептидная часть цитокина содержит 4 цистеиновых остатка, образующих в молекуле две дисульфидные связи, которые формируют соответственно две петли. Какое-либо нарушение этих связей приводит к изменению конформации белка и потере его биологических функций.

Клетками-продуцентами ИЛ-8 являются макрофаги, лимфоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки эпидермиса. Как и другие цитокины, ИЛ-8 - индуцибельный белок. Его продукция начинается после воздействия на клетки митогенов или эндогенных регуляторов: ИЛ-1, ИЛ-3, ФНО, ГМ-КСФ и др. [2, 4, 8, 11]. Помимо основного биологического действия, как хемоат-

трактанта, ИЛ-8 усиливает адгезивные свойства нейтрофилов, изменяя экспрессию интегринов и других соединений с адгезивными свойствами. Свойства ИЛ-8 вызывать миграцию клеток и способствовать их адгезии определяют его как активного участника острой воспалительной реакции в местах проникновения патогена [11].

В связи с этим представляется интересным оценить вклад цитокинов в дисрегуляцию иммунитета при дегенеративно-дистрофических заболеваниях суставов, проанализировав, каким образом изменяется соотношение провоспалительных и регуляторных цитокинов на примере ГМ-КСФ, ИЛ-8, а также оценить кислородозависимые механизмы бактерицидности нейтрофилов и макрофагов в НСТ-тесте.

Целью нашей работы было оценить возможность прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде путём мониторинга уровня ГМ-КСФ, ИЛ-8 и показателей НСТ-теста у больных с ДДЗ до и после эндопротезирования тазобедренных суставов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами исследована кровь 33 больных до и после операции эндопротезирования тазобедренных суставов, находившихся на лечении в Приморском краевом центре ортопедии и эндопротезирования, из них 11 (33,3 %) было с развившимися послеоперационными инфекционными осложнениями в виде удлинения сроков заживления послеоперационной раны, образования свищей, а так же нагноения послеоперационной раны, 16 (48,5 %) – без инфекционных осложнений с гладким течением послеоперационного периода, 6 (18,2 %) – после ревизионного эндопротезирования. 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-е сутки после операции. Определение ГМ-КСФ, ИЛ-8 проводилось иммуноферментным методом с применением тест-систем фирмы «R & D System Inc.», США. Оценка кислородозависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов и моноцитов проводилось в НСТ-тесте спектрофотометрическим методом. Активация в НСТ-тесте проводилась латексом *in vitro*. Статистические данные обрабатывались программой BIOSTAT, достоверность различий оценивалась по критерию Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У больных с гладким послеоперационным периодом перед операцией показатели ГМ-КСФ были выше, чем в контрольной группе и составили $2,14 \pm 0,58$ пг/мл против $0,99 \pm 0,10$ пг/мл ($p < 0,05$). В первые сутки после операции отмечалось повышение показателей активности ГМ-КСФ ($3,81 \pm 1,02$ пг/мл, $p < 0,05$), с последующим понижением на 5-е сутки ($2,41 \pm 0,68$ пг/мл, $p < 0,05$). В динамике на 14-е сутки после операции количество ГМ-КСФ изменялось мало и составило $2,13 \pm 0,56$ пг/мл, $p < 0,05$, однако уровень изучаемого медиатора оставался достоверно выше, чем у здоровых людей.

В группе больных с послеоперационными осложнениями показатели ГМ-КСФ перед операцией составили $2,23 \pm 0,67$ пг/мл ($p < 0,05$) и также

в предоперационный период оказались выше, чем в контрольной группе – $0,99 \pm 0,10$ пг/мл ($p < 0,05$). На первые сутки после операции у больных с осложнённым течением зафиксирована монотонная динамика ($1,92 \pm 0,5$ пг/мл), с последующим резким увеличением уровня ГМ-КСФ на 5-е и 14-е сутки ($12,54 \pm 5,52$ пг/мл и $15,40 \pm 3,24$ пг/мл соответственно, при $p < 0,05$).

В группе больных после ревизионного вмешательства предоперационные значения ГМ-КСФ составили $1,46 \pm 0,22$ пг/мл ($p < 0,05$), на 1-е сутки после операции у этих больных зафиксирован резкий подъём уровня ГМ-КСФ до $6,70 \pm 2,14$ пг/мл ($p < 0,05$), с последующим резким снижением на 5-е и 14-е сутки ($1,51 \pm 0,26$ пг/мл и $0,61 \pm 0,03$ соответственно при $p < 0,05$) (рис. 1).

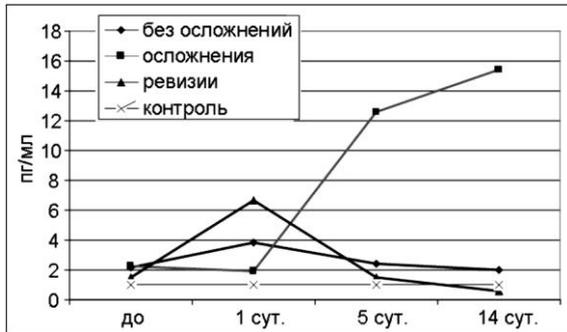


Рис. 1. Динамика ГМ-КСФ у больных с ДДЗ до и после операции эндопротезирования тазобедренного сустава

У больных с гладким послеоперационным периодом перед операцией показатели ИЛ-8 были выше, чем в контрольной группе и составили $26,6 \pm 7,1$ пг/мл ($p < 0,05$) против $5,8 \pm 1,2$ пг/мл ($p < 0,05$). На 1-е сутки после операции отмечалось снижение уровня ИЛ-8 до $14,5 \pm 3,8$ пг/мл ($p < 0,05$) с последующим значительным повышением на 5-е сутки ($42,7 \pm 6,1$ пг/мл, $p < 0,05$) и снижением на 14-е сутки ($30,4 \pm 6,7$ пг/мл, $p < 0,05$).

У больных с осложнённым течением послеоперационного периода до операции уровень ИЛ-8 составил $9,9 \pm 1,2$ пг/мл против контрольной группы $5,8 \pm 1,2$ пг/мл ($p < 0,05$). На первые сутки после операции отмечалось повышение показателей ИЛ-8 ($26,3 \pm 5,1$ пг/мл, $p < 0,05$) с монотонным значением на 5-е сутки ($23,6 \pm 0,9$ пг/мл, $p < 0,05$). Однако на 14-е сутки после операции отмечался резкий подъём уровня ИЛ-8 до $54,5 \pm 20,6$ пг/мл, ($p < 0,05$).

У больных после ревизионного вмешательства перед операцией показатели ИЛ-8 составили $7,6 \pm 1,2$ пг/мл, ($p < 0,05$). На первые сутки зафиксирован существенный подъём уровня ИЛ-8 ($33,8 \pm 2,30$ пг/мл, $p < 0,05$) с последующим быстрым снижением на 5-е сутки и монотонным уровнем на 14-е сутки $1,5 \pm 0,9$ пг/мл и $1,7 \pm 0,1$ пг/мл соответственно при $p < 0,05$ (рис. 2).

При оценке кислородозависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов и моноцитов в спонтанном НСТ-тесте нами было отмечено закономерное снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов в раннем послеоперационном периоде с последующим возрастанием показателей активности в позднем послеоперационном периоде у всех больных без осложнений после операции. У этой же группы больных при активации латексом в НСТ-тесте отмечалось увеличение показателей фагоцитарной активности у 81,25 % (13 чел.), отсутствие ответа на активацию латексом выявлено у

12,5 % (2 чел.). Супрессия показателей фагоцитарной активности при воздействии латексом зафиксирована у 6,25 % (1 чел.) соответственно.

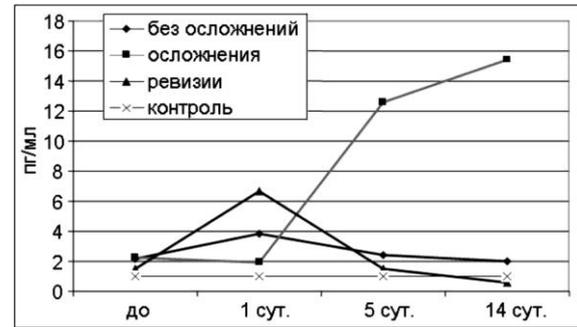


Рис. 2. Динамика ИЛ-8 у больных с ДДЗ до и после операции эндопротезирования тазобедренного сустава

У 11 (33,3 %) больных в послеоперационном периоде развились осложнения в виде удлинения сроков заживления послеоперационной раны, образования свищей, а также нагноения послеоперационной раны. Для них характерны были низкие показатели фагоцитарной активности в НСТ-тесте в ранний послеоперационный период, а также отсутствие положительной динамики или супрессия при стимуляции латексом *in vitro*. У 6 (18,2 %) больных после ревизионного эндопротезирования отмечалось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов в раннем послеоперационном периоде с последующим возрастанием показателей активности в позднем послеоперационном периоде. При активации латексом *in vitro* в этой группе больных отмечалось незначительное увеличение показателей у 5 (83,3 %) и отсутствие ответа на активацию у 1 (16,7 %).

Таким образом, нами была выявлена взаимосвязь между активностью ГМ-КСФ и ИЛ-8 на 5-е и 14-е сутки, а также снижение показателей кислородной активности макрофагов, моноцитов в поздний послеоперационный период и последующим развитием осложнений. Повышение уровня ГМ-КСФ на 5-е и 14-е сутки, а также реактивация продукции ИЛ-8 на 14-е сутки, не даёт в полной мере развиваться иммунному ответу после операционной травмы, что в свою очередь ведёт к дисбалансу в системе цитокинов и клеточном иммунном ответе и, как следствие, приводит к развитию послеоперационных осложнений.

ВЫВОД

Повышение показателей ГМ-КСФ на 5-е и 14-е сутки а также резкое увеличение ИЛ-8 на 14-е сутки после операции эндопротезирования тазобедренного сустава, а также снижение показателей

кислородной активности макрофагов, моноцитов в поздний послеоперационный период можно расценивать как прогностические признаки неблагоприятного течения послеоперационного периода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Взаимосвязь иммунной реактивности, эндотоксикоза и исхода шокогенной травмы / О. Б. Арискина [и др.] // Медицинская иммунология. - 2003. - Т. 5, № 3-4. - С. 390-391.
2. Вологжанин, Д. А. Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов после тяжелой механической травмы / Д. А. Вологжанин, Н. М. Калинина // Медицинская иммунология. - 2003. - Т. 5, № 3-4. - С. 394-395.
3. Змушко, Е. И. Клиническая иммунология : рук. для врачей / Е. И. Змушко, Е. С. Белозёров, Ю. А. Митин. – СПб., 2001. - 574 с.
4. Система цитокинов и болезни органов дыхания / под ред. Б. И Гельцера, Е. В. Просековой. – Владивосток : Дальнаука, 2005. - С. 256.
5. Титов, В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы (обзор литературы) / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2003. - № 12. - С. 3-12.
6. Effect of Mycoplasma pneumoniae antigen on the production of IL-4, IL-6 and IL-10 in spleen cells of mice / M. W. Chang [et al.] // Abst. 13th Int. Cong. IOM. - Fukuoka, 2000. - P. 159.
7. The general characteristic of the cytokines / G. M. Clore [et al.] // Biochemistry. – Vol. 29. - P. 1689-1696.
8. Dinarello, C. Proinflammatory cytokines / C. Dinarello // Chest. - 2000. – Vol. 118. - P. 503-508.
9. Partial purification of the active entities in the cultural supernatant of Mycoplasma fermentans that induce interleukin-6 production by human gingival fibroblasts / A. Hasebe [et al.] // Abst. 13th Int. Cong. IOM. - Fukuoka, 2000. - P. 169.
10. Induction of cytokines in human peripheral blood mononuclear cells by mycoplasmas / M. Kita [et al.] // Microbiol. Immunol. - 1992. - Vol. 36. - P. 507-516.
11. Landschul, W. H. The leucine zipper : a hypothetical structure common to a new class of DNA-binding proteins / W. H. Landschul, P. F. Johnson, S. L. McKnight // Science. - 1988. - Vol. 240. - P. 1759-1764.

Рукопись поступила 10.07.07.

Предлагаем вашему вниманию



А.П. Шейн, М.С. Сайфутдинов, Г.А. Криворучко

ЛОКАЛЬНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ РЕАКЦИИ СЕНСОМОТОРНЫХ СТРУКТУР НА УДЛИНЕНИЕ И ИШЕМИЮ КОНЕЧНОСТЕЙ

Курган : ДАММИ, 2006. – 284 с.

Книга вышла при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), проект № 06-04-62019.

В книге отражены результаты многоплановых нейрофизиологических исследований реактивности и адаптации нервов и мышц при удлинении конечностей методом дистракционного остеосинтеза по Илизарову, а также анализа характеристик вызванной биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга и локальных изометрических моторных тестов, построенных на принципах непрерывного и дискретного зрительно-моторного слежения. Сформулированы и обоснованы концептуальные представления о развитии и фиксации парциальных нарушений в системе взаимодействия периферических сенсомоторных структур с системой "схема тела". Проанализированы механизмы формирования постдистракционной сенсомоторной недостаточности, связанной с глубокими перестройками в периферической части двигательных единиц, т.е. возникновением и развитием несоответствия генетически предопределенных и сформированных в онтогенезе центральных моторных программ исполнительным возможностям эффекторов, а также формирования дефицита адекватного сенсорного обеспечения движений с участием удлинённой конечности. Предложены методы диагностики и коррекции постдистракционных двигательных расстройств, основанные на технологиях электронейромиографии, регистрации и анализа вызванной биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга, электромиостимуляции, функционального биоуправления и гипербарической оксигенации.

Книга рассчитана на нейрофизиологов, психофизиологов, ортопедов-травматологов, невропатологов, реабилитологов.