

© Группа авторов, 2003

Влияние биологически активной пищевой добавки «Пектибон» на показатели периферической крови и иммунный статус при удлинении голени методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову в эксперименте

М.В. Чепелева, С.Н. Лунёва, О.Л. Кармацких, С.П. Изотова

The effect of biologically active nutritional addition "Pectibone" on peripheral blood indices and immune status in the process of leg lengthening using transosseous osteosynthesis technique according to Ilizarov experimentally

M.V. Chepeleva, S.N. Luniova, O.L. Karmatskikh, S.P. Izotova

Государственное учреждение науки

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

Работа посвящена исследованию иммунологического статуса и динамики показателей периферической крови у экспериментальных животных в процессе лечения методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову на фоне введения биологически активной пищевой добавки «Пектибон». Отмечена активация Т-клеточного звена иммунитета у животных опытной группы и умеренный Т-клеточный иммунодефицит у животных контрольной группы. Зарегистрирована нормализация показателей периферической крови в более ранние сроки по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: БАД, «Пектибон», чрескостный остеосинтез, периферическая кровь, иммунитет.

The work is devoted to studying of immunological status and the dynamics of peripheral blood indices in experimental animals during their treatment by transosseous osteosynthesis technique according to Ilizarov through introduction of biologically active nutritional addition "Pectibone". The activation of immunity T-cell link in the animals of the experimental group was noted and moderate T-cell immune deficiency - in the animals of the control group. Normalization of the peripheral blood indices was noted earlier in comparison with the control group.

Keywords: biologically active addition (BAA), "Pectibone", transosseous osteosynthesis, peripheral blood, immunity.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что дефицит кальция в организме приводит к развитию ряда заболеваний и остеопороза в частности [5-7]. Решение данной проблемы является одной из сложнейших задач современной медицины. В РНЦ «ВТО» имени Г.А. Илизарова совместно с ОАО «Дементра» (Москва) на основе продуктов переработки костной ткани и растительного сырья с целью профилактики и лечения остеопороза разработан биологически активная пищевая добавка «Пектибон». Данный препарат представляет собой порошок светло-коричневого цвета, обладающий слабо выраженным кисловато-солоноватым вкусом, содержит высокорастворимые аминокислотные соли кальция и пектин-целлюлозный комплекс. Растительные волокна, входящие в состав препарата, играют важную

роль в функционировании ряда органов и систем организма. Не перевариваясь в желудочно-кишечном тракте, они влияют на функцию толстого кишечника, ускоряя кишечный транзит и перистальтику, способствуют очищению организма за счет абсорбции желчных кислот, токсинов, предупреждают всасывание ионов тяжелых металлов и радионуклидов [3]. Комбинированное использование пектинсодержащих растительных волокон и аминокислотных солей кальция позволяет направленно стимулировать процессы биологической минерализации костной ткани, а также опосредованно влиять на функции иммунокомпетентных органов [1, 8].

«Пектибон» применяется перорально в сухом виде или в смеси с пищевыми продуктами растительного или животного происхождения различ-

ной консистенции в течение 1-3-х месяцев.

Цель данного исследования – изучение влияния биологически активной пищевой добавки «Пектибон» на иммунный статус и пока-

затели периферической крови у экспериментальных животных в процессе удлинения голени методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведён на 11 взрослых беспородных собаках в возрасте от 1-го до 3-х лет, массой тела $19.9 \pm 0,6$ кг, с длиной голени $18,4 \pm 0,6$ см. Для удлинения конечности применяли аппарат Илизарова, состоящий из двух дуг и двух колец, на которых фиксировали две взаимоперекрещивающиеся спицы, проведенные через большеберцовую кость (операции проведены к.м.н. С.А. Ерофеевым). Дистракцию начинали через 5 дней после операции и проводили в режиме 1 мм в день в 4 приема в течение 4-х недель. Удлинение голени составило 15 % от исходной длины. На протяжении последней недели дистракции и последующих 30 дней фиксации животным опытной группы в пищу ежедневно добавляли препарат "Пектибон" в количестве 3-х граммов. Контрольную группу составили 4 собаки.

Оценка иммунного статуса проведена на основании комплекса стандартных и унифицированных тестов, предложенных институтом иммунологии МЗ России с незначительными модификациями [2, 4]. Лабораторно - иммунологическое исследование включало подсчёт общего числа лимфоцитов и лейкоцитов в периферической крови в камере Горяева, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом осаждения с полиэтиленгликолем. Подсчёт числа ретикулоцитов осуществляли в мазке крови, окрашенным бриллианткрезильовым синим, содер-

жание эритроцитов и уровень гемоглобина определяли посредством фотоэлектрического эритрогеметра. Для морфологического исследования периферической крови использовали окраску препаратов по Романовскому – Гимзе. С целью объективизации влияния биодобавки «Пектибон» на клеточный состав белой и красной крови были применены показатель состояния (ПС) и системный индекс красной крови (СИКК), рассчитываемые по лейкограмме и эритрограмме и используемые для оценки динамики адаптационного процесса и активности репаративного остеогенеза [4].

$$ПС = k \frac{e + 1 + m}{nL},$$

где e , l , m , n – содержание эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов (соответственно) на 10^5 клеток крови, где

k – нормирующий коэффициент, равный 10^2 ;

L – количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови.

$$СИКК = k \times \varepsilon p \times Hb,$$

где k – коэффициент размерности, равный 10^{-8} ;

εp – количество эритроцитов в мкл крови;

Hb – концентрация гемоглобина, г/л.

Забор крови проводился в дооперационном периоде; на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й неделе дистракции и на 30-й день периода фиксации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ иммунологической картины показал следующее: в обеих группах до операции отмечено нормальное число лейкоцитов и лимфоцитов (рис. 1). В группе животных, получавших «Пектибон» отсутствовали статистически значимые изменения данных показателей. В контрольной группе зарегистрировано достоверное снижение содержания лимфоцитов и повышение количества лейкоцитов к окончанию периода фиксации. В опытной группе наблюдалось постепенное повышение числа Т-лимфоцитов в периферической крови. Статистически значимые различия были зафиксированы к концу дистракции (рис. 2). Сходная динамика отмечалась со

стороны Т-активных лимфоцитов. В контрольной группе содержание Т- лимфоцитов достоверно снизилось к 4-й неделе дистракции, вернулось к исходному уровню к окончанию эксперимента. Число Т-активных лимфоцитов в этой группе повысившись на 1-й неделе дистракции, уменьшилось на последующих исследуемых этапах. К 30-му дню фиксации данный показатель был достоверно ниже исходного уровня (рис. 3). Содержание ЦИК до операции, а также на протяжении периодов дистракции и фиксации в обеих группах не подвергалось статистически значимым изменениям (табл. 1, рис. 4).

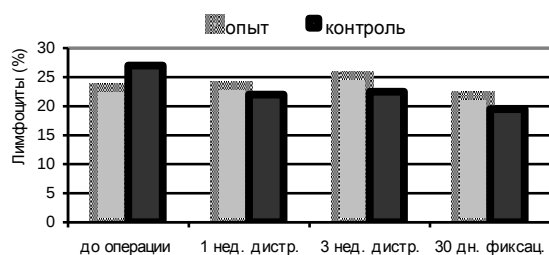


Рис. 1. Динамика содержания лимфоцитов в периферической крови.

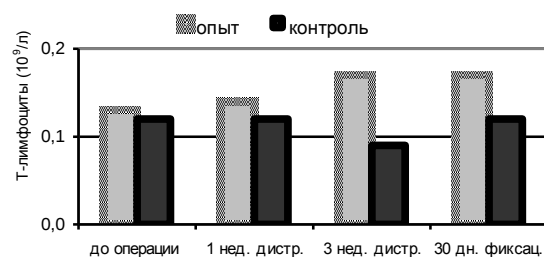


Рис. 2. Динамика содержания Т-лимфоцитов в периферической крови.

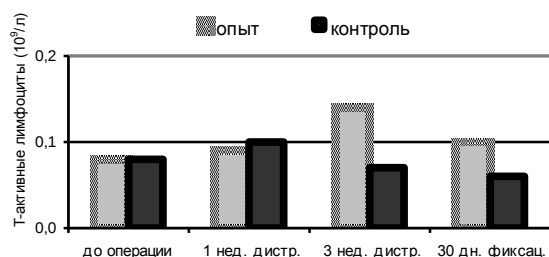


Рис. 3. Динамика содержания Т-активных лимфоцитов в периферической крови.

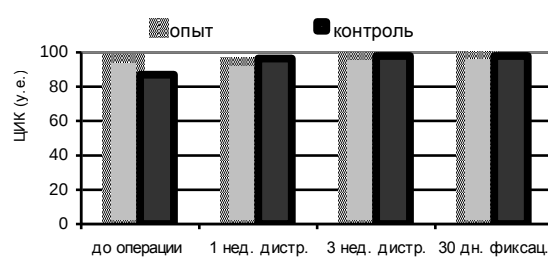


Рис. 4. Динамика содержания циркулирующих иммунных комплексов в периферической крови.

Таблица 1.

Динамика иммунологических показателей (M±m)

Сроки наблюдения		Показатели					
		Лимфоциты (%)	Т-лимфоциты (%)	Т-активные лимфоциты (%)	Абс. к-во Т-лимфоцитов (10 ⁹ /л.)	Абс. к-во Т-активных лимфоцитов (10 ⁹ /л.)	ЦИК (у.е.)
До операции	Опыт	23,2±2,28	10,0±0,42	8,4±2,99	0,13±0,037 ⁺	0,08±0,027	96,4±1,66
	Контроль	27,0±2,0	9,0±1,0	6,5±1,49	0,12±0,015	0,08±0,025	87,0±3,0 [*]
1неделя дистр.	Опыт	23,6±2,2	10,0±1,35	10,4±1,32 ⁺	0,14±0,046 ⁺	0,09±0,018	94,5±1,79
	Контроль	22,0±0,0*	7,5±0,49	5,5±2,01	0,12±0,035	0,10±0,075*	96,5±0,49*
3неделя дистр.	Опыт	25,3±5,04	10,3±0,33	7,33±2,02	0,17±0,058* ⁺	0,14±0,071* ⁺	98,0±0,0
	Контроль	22,5±1,25*	8,0±2,0	6,0±2,0	0,09±0,055*	0,07±0,045*	98,0±0,0*
30дней фиксац.	Опыт	21,8±0,69 ⁺	12,3±0,01 ⁺	7,5±2,06 ⁺	0,17±0,016* ⁺	0,10±0,037* ⁺	98,5±6,6
	Контроль	19,5±0,5*	6,5±0,5*	5,0±0,0	0,12±0,025	0,06±0,095*	98,0±1,0*

Примечание: * - p<0.05 различия достоверны по отношению к соответствующим показателям дооперационного периода.

⁺ - p<0.05 различия достоверны по отношению к соответствующим показателям контрольной группы.

Динамика показателей красной крови выглядела следующим образом: статистически значимых изменений уровня гемоглобина, числа эритроцитов и ретикулоцитов в группе животных, получавших «Пектибон» зарегистрировано не было. В контрольной группе наблюдалось достоверное снижение гемоглобина к окончанию эксперимента (30-й день фиксации), отмечено значительное повышение числа ретикулоцитов к концу distraction (250% от исходного уровня) (табл. 2, рис. 5, 6). СИКК в опытной группе до операции составил $0,57 \pm 0,032$, снизившись на 1-й неделе distraction ($0,46 \pm 0,028$), уже к окончанию периода distraction СИКК вернулся к исходному уровню ($0,55 \pm 0,043$). В контрольной группе динамика данного индекса была менее благоприятной. До операции СИКК составил $0,61 \pm 0,013$, статистически значимые изменения были зафиксированы в начале периода фиксации ($0,53 \pm 0,024$). К окончанию эксперимента СИКК оставался достоверно ниже дооперационного уровня ($0,51 \pm 0,022$).

Анализ клеточного состава белой крови по-

казал отсутствие выраженных изменений числа лейкоцитов в опытной группе на протяжении эксперимента и повышение их содержания в контрольной группе к окончанию периода фиксации. Процентное число лимфоцитов в опытной группе оставалось в пределах нормальных значений, в контрольной группе зарегистрировано достоверное снижение данного показателя на всех исследуемых этапах (рис. 1). К концу периода фиксации количество лимфоцитов периферической крови в контрольной группе составило 75% от дооперационного уровня. Статистически значимых различий в содержании сегментоядерных нейтрофилов в обеих группах не отмечалось. Число палочкоядерных нейтрофилов в опытной группе колебалось в пределах нормальных значений, в контрольной группе превысило верхнюю границу нормы на 30-й день фиксации (рис. 7).

В обеих группах ПС в дооперационном периоде не имел достоверных отличий и составил $7,6 \pm 0,7$ и $7,7 \pm 0,9$ соответственно. На этапе distraction в обеих группах было зарегистрировано

снижение данного показателя. Статистически значимые различия в группе животных, получавших «Пектибон», были отмечены на 4-й неделе distraction (ПС – $5,0 \pm 0,2$), в контрольной группе – на 2-й неделе distraction (ПС –

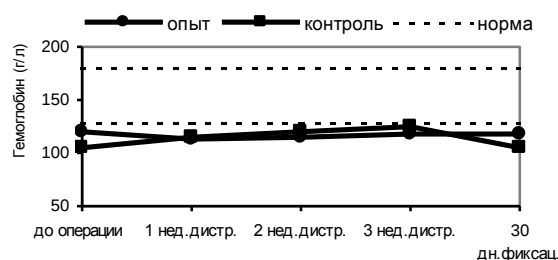


Рис. 5. Динамика уровня гемоглобина.

$5,7 \pm 0,3$). К окончанию периода фиксации в опытной группе ПС вернулся к исходным значениям (ПС – $7,5 \pm 0,5$), в контрольной группе остался достоверно ниже дооперационного уровня (ПС – $5,2 \pm 0,8$).

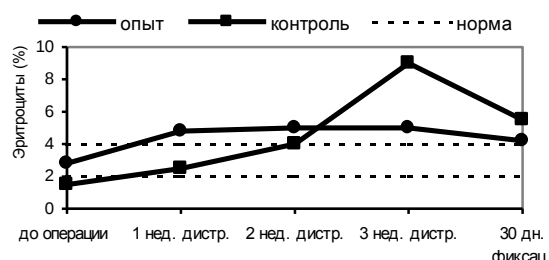


Рис. 6. Динамика содержания ретикулоцитов в периферической крови.

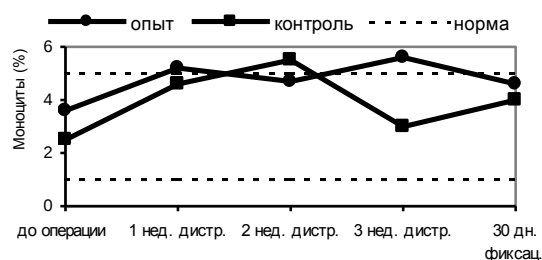


Рис. 7. Динамика содержания моноцитов в периферической крови.

Примечание: пунктирными линиями обозначены нормативные границы исследуемого показателя.

Таблица 2.

Динамика показателей красной крови (M±m)

Сроки наблюдения		Показатели		
		Гемоглобин (г/л.)	Эритроциты ($10^{12}/л.$)	Ретикулоциты (%)
До операции	Опыт	$120 \pm 3,8$	$4,5 \pm 0,15^+$	$3,6 \pm 0,78^+$
	Контроль	$125 \pm 5,0$	$5,0 \pm 0,0$	$1,5 \pm 0,10$
1неделя distraction	Опыт	$113 \pm 4,8$	$4,2 \pm 0,12^+$	$4,8 \pm 0,58^+$
	Контроль	$115 \pm 5,0$	$4,6 \pm 0,05$	$2,5 \pm 0,48^*$
2неделя distraction	Опыт	$115 \pm 5,1$	$4,3 \pm 0,28^+$	$5,0 \pm 0,73$
	Контроль	$120 \pm 0,0$	$4,8 \pm 0,15$	$4,0 \pm 1,0^*$
3неделя distraction	Опыт	$118 \pm 0,2^+$	$4,3 \pm 0,25^+$	$5,0 \pm 0,83^+$
	Контроль	$125 \pm 5,0$	$4,9 \pm 0,05$	$9,1 \pm 1,48^{*+}$
30дней фиксации	Опыт	$118 \pm 2,5^+$	$4,8 \pm 0,14$	$4,2 \pm 0,75$
	Контроль	$105 \pm 7,0^*$	$4,6 \pm 0,45$	$5,5 \pm 1,48^*$

Примечание: * - $p < 0.05$ различия достоверны по отношению к соответствующим показателям дооперационного периода.

⁺ - $p < 0.05$ различия достоверны по отношению к соответствующим показателям контрольной группы.

Таблица 3.

Динамика показателей белой крови (M±m)

Сроки наблюдения		Показатели			
		Лейкоциты ($10^9/л.$)	Моноциты (%)	Палочко-ядерные нейтрофилы (%)	Сегментно-ядерные нейтрофилы (%)
До операции	Опыт	$7,5 \pm 0,77$	$3,6 \pm 0,18^+$	$4,4 \pm 0,49$	$60,3 \pm 0,89$
	контроль	$7,7 \pm 0,39$	$2,5 \pm 0,49$	$4,5 \pm 0,29^*$	$60,5 \pm 0,49$
1неделя distraction	Опыт	$8,7 \pm 0,78^+$	$4,8 \pm 0,67^*$	$5,3 \pm 0,18^{*+}$	$59,0 \pm 0,68$
	контроль	$7,2 \pm 0,38$	$4,6 \pm 0,49^*$	$6,5 \pm 0,48^*$	$57,5 \pm 2,48$
2неделя distraction	Опыт	$9,2 \pm 1,24$	$4,7 \pm 0,69$	$6,0 \pm 0,48^{*+}$	$59,0 \pm 1,36^*$
	контроль	$8,4 \pm 2,36$	$4,2 \pm 0,48^*$	$4,5 \pm 0,49^*$	$58,0 \pm 0,0$
3неделя distraction	Опыт	$10,4 \pm 0,18^{*+}$	$5,6 \pm 1,0^{*+}$	$5,8 \pm 0,67^*$	$59,8 \pm 1,26$
	контроль	$6,5 \pm 1,08$	$3,0 \pm 0,5$	$5,0 \pm 2,0$	$58,0 \pm 2,0$
30дней фиксации	Опыт	$8 \pm 0,98^+$	$4,2 \pm 0,57^*$	$5,5 \pm 0,48^*$	$58,4 \pm 1,36^+$
	контроль	$11,4 \pm 1,58^*$	$4,0 \pm 0,0^*$	$7,0 \pm 2,0^*$	$62,2 \pm 2,0$

Примечание: * - $p < 0.05$ различия достоверны по отношению к соответствующим показателям дооперационного периода.

⁺ - $p < 0.05$ различия достоверны по отношению к соответствующим показателям контрольной группы.

ВЫВОДЫ

1. У животных, получавших «Пектибон», нормализация показателей периферической крови отмечается в более ранние сроки по сравнению с контрольной группой.

2. В процессе удлинения голени методом чрескостного остеосинтеза имеет место активация Т-клеточного звена иммунитета у животных при применении биологически активной пище-

вой добавки «Пектибон» и умеренный Т-клеточный иммунодефицит на этапе конца distraction у животных контрольной группы.

3. Наблюдаемая иммунологическая динамика свидетельствует о влиянии биологически активной пищевой добавки «Пектибон» на функции иммунокомпетентных органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донская Г.А., Денисова Е.А. Перспективы использования молочных продуктов с «Пектибоном» в лечебно-профилактическом питании / Материалы IV Международного симпозиума «Биологически активные добавки к пище: XXI век». - М.: VIP Publishing, 2000. - С.77-78.
2. Иммуный статус больных при distractionном остеосинтезе по Г.А. Илизарову и коррекция его нарушений: Пособие для врачей / МЗ и медицинской промышленности РФ. Уральский НИИТО; Сост.: С.В. Гюльнарзова, В.И. Мамаев, В.В. Базарный. - Екатеринбург, 1996. - 20 с.
3. Оксенгендлен Г.И. Яды и противоядия. - Л.: Наука, 1982. - 191с.
4. Оценка течения репаративного остеогенеза: Метод. рекомендации / МЗ РСФСР. ВКНЦ «ВТО»; Сост.: Ю.П. Балдин, К.С. Десятниченко. - Курган, 1991. - 23 с.
5. Риггз Б.Л., Мелтон Л.Дж. Остеопороз: этиология, диагностика, лечение / Пер. с англ. - М. - СПб.: Изд-во Бином «Невский диалект», 2000. - 560с.
6. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз: Практ. рук-во для врачей / 2-е изд. перераб. и доп. - М.: Изд. Мокеев, 2000. - 200 с.
7. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз / Пер. с нем. - М.: Медицина, 1995. - 301с.
8. Шевцов В.И., Лунёва С.Н. Экспериментальное обоснование применения пищевой добавки «Пектибон» // Новые технологии и фундаментальные исследования в медицине: Материалы III Рос. межрегион. конф., посвящ. 60-летию Челябин. гос. мед. акад. - Челябинск, 2002. - С.121-122.

Рукопись поступила 19.07.02.