

Иммунологические показатели у больных хроническим остеомиелитом при лечении с применением трансфер-фактора

Рак А.В., Дадали В.А., Столпник Е.С., Келвин Мак Косланд, Оганова Э.А.,
Гайковая Л.Б.

*Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова,
4-Life Research, США*

Как было показано нами в сообщении [1], трансфер фактор (ТФ), являясь иммуномодулятором, одновременно оказывает разностороннее влияние на биохимические механизмы неспецифической резистентности у больных остеомиелитом, включая систему свободно-радикального и перекисного окисления, повышает резистентность биомембран, проявляя мембраностабилизирующий эффект. Безусловно, уже этот комплекс свойств ТФ оказывает благоприятное влияние на состояние организма больных остеомиелитом, поскольку повышение неспецифической резистентности организма отражает усиление его адаптивных возможностей и способность сопротивляться повреждающему действию инфекционного фактора. Однако основной аспект действия ТФ - специфически иммуностропный [2, 3]. В силу этого исследование его влияния на иммунологические показатели у больных остеомиелитом позволяет оценить эффективность основного иммуностропного вектора действия препарата при данной патологии.

Иммунологические исследования и определение иммунологических показателей у больных остеомиелитом проводилось одновременно и в одном и том же режиме с биохимическими исследованиями, условия проведения которых были обсуждены в сообщении [1].

Материалы и методы

Клеточный иммунитет оценивали по абсолютному и относительному количеству субпопуляций лимфоцитов (СД3⁺, СД4⁺, СД8⁺, СД16⁺, СД19⁺), реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с фитогемагглютинином (ФГА) с подсчетом индекса миграции (ИМ). Концентрацию иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, уровень циркулирующих иммунных комплексов по методике Ю.А.Гриневича и А.Н.Алферова (1981). Оценка состояния неспецифической резистентности

проводилась по реакции фагоцитоза с латексом с определением фагоцитарного числа (ФЧ) (процента фагоцитирующих нейтрофилов), фагоцитарного индекса (ФИ) (среднее число частиц латекса, поглощенного одним нейтрофилом) и спонтанной миграции (СМ) лейкоцитов в РТМЛ (способности лейкоцитов мигрировать в пятиканальных медицинских капиллярах со средой 199).

Статистическая обработка данных включала подсчет средних арифметических величин (\bar{X}), стандартных ошибок средних арифметических (m) и стандартного отклонения. Достоверные различия иммунологических показателей между группами рассчитывались по коэффициенту Стьюдента. Анализ данных проводился с помощью пакета прикладных программ Statgraf.

Результаты и их обсуждение

Прежде чем перейти к обсуждению вопроса о действии ТФ на иммунологические показатели у больных остеомиелитом представляется целесообразным обсудить некоторые особенности состояния иммунной системы при этом заболевании.

Остеомиелит имеет различные формы, которые характеризуются соответствующими изменениями в иммунологической реактивности. Посттравматические остеомиелиты у взрослых протекают преимущественно на фоне повышенного уровня лейкоцитов (в частности, сегментоядерных), лимфоцитов (Т-РОК), иммуноглобулина G, нормального или повышенного содержания иммуноглобулина А и лизоцима в периферической крови. Установлено нарушения не только в Т-системе иммунитета, но и в В-системе. Показана смена микрофлоры очага воспаления, которая отражалась на динамике иммуноглобулинов, соответствующей типам первичного и вторичного иммунного ответа [4].

Выявлена связь воспалительного процесса при остеомиелите с динамикой показателей естественной резистентности в тканях. Волнообразное течение остеомиелита с чередованием фаз ремиссии и обострения характеризуется закономерными колебаниями показателей естественной резистентности [5]

Было установлено, что хронический посттравматический остеомиелит сопровождается выраженными аутоиммунными реакциями [6].

Хронизация остеомиелита связана с формированием вторичного постинфекционного иммунодефицита, вызванного как иммунодепрессивным влиянием микробных возбудителей, так и особенностями иммунологической реактивности организма-хозяина [8].

У больных локальной формой острого гематогенного остеомиелита был значительно угнетен клеточный иммунитет – снижено число Т-лимфоцитов. В то же время в гуморальном звене иммунитета отмечена активация: некоторое увеличение В-лимфоцитов и клеток - предшественников. Содержание иммуноглобулинов А, М, G к моменту поступления больных на лечение обычно понижено, но на первой неделе заболевания оно увеличивалось, затем, по мере санации гнойного очага и начинающегося выздоровления больных, претерпевало обратное развитие. По некоторым данным, у больных хроническим гематогенным остеомиелитом иммунологические сдвиги могут сохраняться до 3 лет.

При генерализованной форме остеомиелита отмечается значительный разброс количества Т-лимфоцитов, в начале повышение, а затем истощение иммунного ответа. Содержание В-лимфоцитов было несколько повышенным и в последующие дни оно увеличивалось более чем в 3 раза, а показатели IgA и IgG оставались высокими, что соответствовало тяжелому гиперергическому течению патологического процесса. Улучшение состояния больных сопровождалось возрастанием активности неспецифической резистентности организма и увеличением Т-лимфоцитов, снижением количества В-лимфоцитов, что является благоприятным прогностическим признаком. Наоборот, высокие цифры В-клеток, параллельно увеличению иммуноглобулинов G, свидетельствуют о прогрессировании гнойно-септического процесса [9]. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) отражает тяжесть течения острого гематогенного остеомиелита. В процессе лечения при положительной динамике их количество уменьшается [10,11].

При традиционном лечении, несмотря на клиническое выздоровление, у всех пациентов имеется значительное снижение по сравнению с нормой Т-лимфоцитов и дисбаланс В-лимфоцитов, что требует дальнейшего иммуномодулирующего лечения. Следовательно, клиническое выздоровление опережает иммунологическое. Результаты проведенного нами исследования влияния ТФ на состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы и показателей неспецифической резистентности у больных остеомиелитом до лечения, в процессе и после такового продемонстрировали следующую картину (табл. 1-3).

До операции у больных выявлялось в сыворотке крови увеличение содержания иммуноглобулинов А и G у 50%, иммуноглобулина М у 30% обследованных. При анализе абсолютных значений эта тенденция сохранялась -

увеличение концентрации иммуноглобулина А ($2,56 \pm 0,31$ г/л) и G ($16,19 \pm 1,61$ г/л) выше контрольных значений У 100% обследованных наблюдалось повышенный уровень образования ЦИК. Увеличение концентрации иммуноглобулинов А и G и ЦИК характеризует тяжесть патологического процесса и обуславливает развитие аутоиммунных процессов и выработку антител к антигенам деструктивно измененных костей и окружающих тканей в процессе воспалительного процесса.

Относительное и абсолютное количество субпопуляций лимфоцитов существенно не изменялось, наблюдалась тенденция к снижению функциональной активности лимфоцитов по РТМЛ. Снижение способности лимфоцитов выделять лимфокины обуславливает длительные персистенции микроорганизмов у больных остеомиелитом и снижению специфической иммунной защиты.

Фагоцитарная число нейтрофилов ($51,71 \pm 5,61\%$) и их поглотительная способность (ФИ) ($2,46 \pm 0,39$) были ниже контрольных значений, а микробицидная способность по спонтанному НСТ-тесту выше ($36,25 \pm 3,74\%$). Хронизация процесса приводит к снижению количества фагоцитирующих клеток и их поглотительной, миграционной и переваривающей функций.

Выявленные в целом изменения в гуморальном звене и неспецифической резистентности характерны для гнойно-септического процесса при остеомиелите (табл. 2 и 3). Наблюдаемый иммунологический дисбаланс требует иммунологической коррекции, для чего и был использован ТФ в экспериментальной группе.

Как видно из табл. 1, в экспериментальной группе имеет место достоверное снижение индекса СД4 / СД8, однако функциональная активность лимфоцитов по РТМЛ в экспериментальной группе выше, чем в контрольной.

При анализе гуморального звена иммунитета (табл. 2 и 3) отмечается достоверное повышение концентрации иммуноглобулина А в сыворотке пациентов, получающих ТФ через 1 неделю и через 1 месяц. Концентрации иммуноглобулинов М и G и ЦИК достоверно не изменялись.

Установлена тенденция показателей неспецифической резистентности к увеличению фагоцитарной, поглотительной и миграционной функции нейтрофилов у пациентов, получающих ТФ.

Уже само оперативное вмешательство с иссечением патологически измененных тканей оказывает положительный эффект на иммунную систему, что

подтверждается снижением концентрации иммуноглобулина А, М и G и уровня ЦИК. Однако фагоцитарная активность и миграционная способность нейтрофилов после операции снижались. Поскольку ведущим звеном иммунной защиты является фагоцитарное звено и ему принадлежит значительная роль в обеспечении реакций на ранних стадиях гнойно-воспалительных процессов, необходима коррекция именно этого звена иммунитета, что и характерно для действия ТФ [2]. Действительно, применение ТФ в послеоперационном ведении больных остеомиелитом вызвало увеличение концентрации иммуноглобулина А и повышение фагоцитарной активности нейтрофилов, что может быть обусловлено способностью ТФ связываться с Th1 - клетками, которые вследствие этого приобретают способность отвечать на специфический антиген активацией и повышением способности распознавания различных микроорганизмов [12]. Важно подчеркнуть, что содержание ЦИК в сыворотке не повышалось.

Обобщая данные клинических наблюдений, биохимических, иммунологических исследований и при применении ТФ у больных разными формами остеомиелита, можно прийти к следующему заключению

Использование ТФ в комплексном лечении остеомиелита оказывает положительное действие на клиническое течение заболевания. Установлено, что препарат способствует повышению мощности аскорбатного и тиол-дисульфидного звеньев АОС и нормализации функциональной активности ферментов антиоксидантной системы.

Показано, что использование продукта в комплексной терапии остеомиелита снижает пероксидацию липидов и белковых структур, и проявляет мембраностабилизирующее действие.

Установлены изменения в гуморальном звене иммунитета, характеризующееся увеличением продукции иммуноглобулина А и стимуляцией фагоцитарного звена иммунитета без заметного повышения уровня ЦИК

Полученные данные свидетельствуют о том, что при остеомиелите в ответ на воздействие ТФ в первую очередь откликаются ферментативные и низкомолекулярные антиоксидантные звенья защитных систем организма, и мембранный аппарат клеточных систем, опережая благоприятное развитие иммунного ответа. Улучшение этих показателей в сочетании с выраженной положительной динамикой состояния иммунной системы позволяет заключить, что даже при такой тяжелой инфекции, как остеомиелит, использование трансфер фактора в дополнение к базовому лечению является целесообразным.

Для дальнейшего улучшения показателей состояния защитных механизмов и прежде всего иммунитета у больных целесообразно увеличить время назначения препарата.

Таблица 1

Показатели лимфоцитогаммы у больных на фоне применения ТФ ($X \pm m$).

Показатели	До операции	Контрольная группа		Экспериментальная группа	
		Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 1 неделю	Через 1 месяц
Лейкоциты, $x^9(1,5-2,4)$	1,73 \pm 0,25 0,71	1,61 \pm 0,21 0,47	1,88 \pm 0,19 0,20	1,60 \pm 0,22 0,71	1,78 \pm 0,53 1,30
СД 3,% (60-80)	73,18 \pm 1,97 5,69	70,00 \pm 3,20 5,18	74,33 \pm 1,73 1,41	73,30 \pm 1,81 5,75	69,17 \pm 2,49 6,11
СД 3×10^9 (1,0-2,4)	1,25 \pm 0,17 0,48	1,13 \pm 0,15 0,35	1,40 \pm 0,17 0,40	1,16 \pm 0,16 0,53	1,21 \pm 0,34 0,85
СД4,% (33-50)	44,11 \pm 1,45 4,10	40,20 \pm 2,08 4,66	41,33 \pm 4,49 5,78	45,80 \pm 1,75 5,55	42,00 \pm 2,42 5,93
СД4, $x10^9$ (0,6-1,7)	0,76 \pm 0,10 0,30	0,64 \pm 0,08 0,20	0,78 \pm 0,08 0,15	0,72 \pm 0,10 0,33	0,73 \pm 0,20 0,49
СД8,% (16-39)	28,98 \pm 2,26 6,36	30,00 \pm 2,16 4,86	32,33 \pm 3,67 6,36	23,57 \pm 2,52 7,99	27,00 \pm 1,52 3,74
СД $8, \times 10^9$ (0,3-1,0)	0,49 \pm 0,07 0,21	0,49 \pm 0,07 0,17	0,60 \pm 0,05 0,11	0,44 \pm 0,07 0,24	0,49 \pm 0,15 0,37
СД4/СД8 (1,5-2,0)	1,60 \pm 0,14 0,42	1,44 \pm 0,15 0,35	1,31 \pm 0,27 0,47	0,77 \pm 0,13 ^{1,2} 0,43	1,59 \pm 0,15 ⁴ 0,38

Показатели	До операции	Контрольная группа		Экспериментальная группа	
		Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 1 неделю	Через 1 месяц
СД16,% (3-20)	14,03±2,17 6,10	15,20±2,95 6,61	11,00±3,26 5,66	12,90±1,68 5,32	17,33±2,33 5,72
СД16,х10 ⁹ (0,03-0,5)	0,25±0,07 0,21	0,24±0,04 0,11	0,21±0,05 0,10	0,22±0,04 0,14	0,33±0,11 0,28
СД19,% (5-22)	11,60±1,57 4,31	14,80±1,77 3,96	11,66±0,05 3,1	12,80±1,26 3,99	11,83±0,70 1,72
СД19,х10 ⁹ (0,04-0,4)	0,20±0,04 0,11	0,25±0,06 0,12	0,22±0,02 0,04	0,20±0,03 0,08	0,21±0,07 0,17
РТМЛ с ФГА, ИМ,%(30-75)	75,80±5,55 15,44	88,20±6,76 15,12	70,66±15,91 17,58	71,90±6,36 20,11	79,33±5,31 15,31

Примечание: ¹-статистически достоверные различия с контрольной группой.

Таблица 2

Показатели гуморального иммунитета у больных остеомиелитом на фоне применения ТФ ($X \pm m$)

Показатели	До операции	Контрольная группа		Экспериментальная группа	
		Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 1 неделю	Через 1 месяц
IgA, г/л (1,2-2,5)	2,56±0,31 0,88	1,70±0,47 1,05	1,81±0,52 0,92	2,69±0,15 ² 0,49	3,03±0,33 ² 0,83
IgM, г/л (0,65-1,65)	1,46±0,16 0,47	1,47±0,27 0,61	1,60±0,50 0,82	1,31±0,15 0,48	1,53±0,13 0,33
IgG, г/л (7,5-15,5)	16,19±1,61 4,71	13,78±1,15 2,57	15,68±3,65 6,39	14,29±1,02 3,23	16,58±2,27 5,57
ЦИК, ед. оп. пл (50-80)	165,43±17,68 48,03	165,00±13,34 52,2	146,60±14,40 42,23	160±15,05 47,60	190±35,50 87,18

Примечание: 2-статистически достоверные различия с контрольной группой.

Таблица 3

Показатели неспецифической резистентности у больных остеомиелитом на фоне применения ТФ ($X \pm m$)

Показатели	До операции	Контрольная группа		Экспериментальная группа	
		Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 1 неделю	Через 1 месяц
ФЧ, % (60-90)	51,71±5,61 14,73	49,50±7,35 16,44	44,66±3,26 5,66	57,40±5,94 18,81	54,67±4,10 10,09
ФИ (4-9)	2,46±0,39 1,04	2,60±0,30 0,69	2,24±0,24 0,42	3,42±0,58 0,84	2,60±0,21 0,53

Показатели	До операции	Контрольная группа		Экспериментальная группа	
		Через 1 неделю	Через 1 месяц	Через 1 неделю	Через 1 месяц
НСТ,% (8-12)	36,25±3,74 9,96	30,00±4,19 9,38	43,33±6,53 11,31	38,40±5,21 16,49	33,00±4,91 12,05
РТМЛ с ФГА,СМ, усл.ед, (2-4)	3,04±0,38 1,09	2,72±0,49 1,10	2,75±0,45 0,78	3,71±0,39 1,24	3,26±0,59 1,47

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дадали В.А., Рак А.В., Столпник Е.С. и др. Влияние трансфер фактора на показатели антиоксидантного статуса больных остеомиелитом. - настоящий сборник.
2. Хэннен В., Трансфер Фактор-Плюс./ Под ред. Ю.П.Гичева и Э.Огановой.- Новосибирск , 2000, 73с.
3. Fudenburg Н. Н., Pizza G. Transfer Factor,1993. New frontiers. Progress in Drug Res. 1994, vol. 42: 311-400.
4. Савицкая К.И., Воробьев А.А., Буачидзе О.Ш. и соавт. Иммуно-микробиологическая характеристика посттравматических остеомиелитов. / Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, М, Медицина, 1988, №1, с.19-28.
5. Сафронов А.А. Показатели естественной резистентности организма при хроническом остеомиелите. / Сборник научных трудов Челябинского мед. Института «Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях», Челябинск, 1979, с. 207 - 210.
6. Белохвостикова Т.С., Кирдей Л.Е., Гаврилова Е.Ю., Промтов М.В., Леонова С.Н., Кирдей Е.Г. Коррекция вторичных нарушений иммунной системы при хроническом посттравматическом остеомиелите./Медицинская иммунология, 2002, т.4, №2, с.228-229.
7. Чуднер В.З., Сабаншиева Р.У., Захаров Н.А., Семушкин В.Н. Показатели иммунологической реактивности у больных хроническим остеомиелитом в процессе активной иммунизации./ Военно-медицинский журнал, 1986, №10, с.68
8. Слесарев В.В., Пыхтеев Д.А., Сучков С.В., Машков А.Е. Проблемы иммунодиагностики хронического остеомиелита у детей. / Медицинская иммунология, 2002, т. 4, №2, с.163-164.
9. Акжигитов Г. Н., Галеев М.А., Сахаутдинов В.Г., Юдин Я.Б. Остеомиелит, М., Медицина, 1986, с. 23-28.
10. Янковский И.К., Новиков Д.К. Клиническое значение динамики показателей иммунологической реактивности при остром гематогенном остеомиелите у детей. / Вестник хирургии им. И.И.Грекова, 1986, т.137, №8, с.88-92.
11. Хэннен Д., Трансфер Фактор-Плюс. / Под ред. Ю. П. Гичева и Э.Огановой.- Новосибирск, 200, 73 с.
12. Мац А.Н. Вновь о препаратах «трансфер-фактора» как о средстве специфической иммунотерапии/ Медицинская иммунология, 2001, т.3, №2, с.328-329.