

НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО И ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ КОСТЕЙ СТОПЫ

Дмитрий Станиславович Тевс^{1,2*}, Павел Вячеславович Калуцкий¹,
Виктор Анатольевич Лазаренко¹

¹Курский государственный медицинский университет,

²Курская областная клиническая больница

Реферат

Цель. Изучение состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета и цитокинового статуса при хроническом остеомиелите костей стопы, протекающем на фоне сахарного диабета и атеросклероза.

Методы. Проведён анализ иммунного и цитокинового статуса 20 больных хроническим остеомиелитом костей стопы. Также сформирована контрольная группа из 20 клинически здоровых доноров крови. Проводили клиническое обследование, изучали фенотипы популяций лимфоцитов, состояние фагоцитарного звена, концентрацию иммуноглобулинов и интерлейкинов. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакетов прикладных программ «Excel» и «Statistica 10». Для сравнения иммунологических показателей групп использовали непараметрический вариант критерия Ньюмена-Кейлса.

Результаты. Развитие остеомиелита костей стопы характеризовалось супрессией фагоцитарного звена иммунитета, снижением абсолютного и относительного числа Т-хелперов, NK-клеток, увеличением содержания Т-цитотоксических лимфоцитов, повышением концентрации про- и противовоспалительных цитокинов.

Вывод. У больных хроническим остеомиелитом костей стопы присутствуют снижение показателей клеточного звена врождённого иммунитета и повышение уровня про- и противовоспалительных цитокинов крови; стандартный курс лечения снижает выраженность дисбаланса иммунного и цитокинового статуса, но не приводит к нормализации исследованных показателей.

Ключевые слова: хронический остеомиелит, иммунный статус, цитокиновый статус.

IMMUNE AND CYTOKINE DISORDERS IN PATIENTS WITH CHRONIC FOOT OSTEOMYELITIS D.S. Tevs^{1,2}, P.V. Kalutsky¹, V.A. Lazarenko¹. *¹Kursk State Medical University, Kursk, Russia, ²Kursk Regional Clinical Hospital, Kursk, Russia.* **Aim.** To study the cell and humoral immunity and cytokine status in patients with chronic foot osteomyelitis associated with diabetes mellitus and atherosclerosis. **Methods.** Immune and cytokine status was assessed in 20 patients with chronic foot osteomyelitis. Results were compared to control group of 20 healthy blood donors. Patients underwent clinical examination, lymphocyte populations phenotypes, phagocytes, immunoglobulins and interleukins concentration were studied. Statistical analysis was performed using «Excel» and «Statistica 10» software. To compare immunological parameters, Newman-Keuls test was used. **Results.** Development of foot osteomyelitis was associated with decreasing of phagocytic activity, absolute and relative number of T-helpers, NK-cells, increasing of T-cytotoxic cells number, pro- and anti-inflammatory cytokines levels. **Conclusion.** A marked suppression of cell-mediated immunity and increased blood levels of pro- and anti-inflammatory cytokines were found in patients with chronic foot osteomyelitis. Standard treatment decreased, but did not normalize the immune and cytokine imbalance. **Keywords:** chronic osteomyelitis, immune status, cytokine status.

Лечение хронического остеомиелита — одна из актуальных проблем хирургии. На фоне внедрения в практику новых методов оперативного лечения и программ комбинированной антибактериальной терапии процент инвалидизации больных хроническим остеомиелитом остаётся высоким и колеблется от 8 до 13% [1]. Частота рецидивов остеомиелита достигает 20–30%, что приводит к высокой частоте вторичных ампутаций (7,5–12,1%) и функциональной неполноценности конечности (10,3–57% случаев) [1].

Персистенция возбудителя, некротизированные ткани в зоне воспаления и обусловленная этим интоксикация при хроническом остеомиелите не только повышают нагрузку на иммунную систему, но и серьёзно повреждают её, а само хирургическое вмешательство без соответствующей иммунокоррекции несёт риск диссеминации локального инфекционного процесса [2]. В

этой связи одним из наиболее перспективных и патогенетически обоснованных направлений в комплексном лечении таких больных становится иммунокорректирующая и дезинтоксикационная терапия [5, 6].

Цель исследования — изучение состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета и цитокинового статуса при хроническом остеомиелите костей стопы, протекающем на фоне сахарного диабета и атеросклероза.

В основу настоящего исследования положены результаты обследования и лечения 20 больных хроническим остеомиелитом костей стопы в возрасте от 30 до 59 лет, поступивших в отделения гнойной хирургической инфекции ГМУ «Курская областная больница» и ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в период с 2011 по 2012 гг. Критериями включения в исследование были клинические и рентгенологически подтверждённый диагноз, согласие пациентов на участие в

Таблица 1

Показатели клеточного звена врождённого иммунитета у больных хроническим остеомиелитом костей стопы до и после лечения

Показатель	Группа контроля (n=20), M±σ	Основная группа (n=20) до лечения, M±σ	Основная группа (n=20) после лечения, M±σ
	1	2	3
Фагоцитарный показатель, %	75,1±3,3 ³	56,6±12,9 ¹	59,2±13,4
Фагоцитарное число	5,8±0,73 ^{2,3}	1,7±0,16 ³	2,02±0,19 ²
Индекс завершенности фагоцитоза	70,7±7,7 ^{2,3}	46,65±10,4 ³	53,3±12 ^{1,2}
Индекс активности фагоцитов	4,4±0,6 ^{2,3}	0,94±0,18 ¹	1,18±0,22 ¹
Спонтанный НСТ-тест	0,1±0,04	0,2±0,07	0,16±0,06
Стимулированный НСТ-тест	0,4±0,06 ^{2,3}	0,24±0,07 ¹	0,23±0,07 ¹
Индекс стимуляции нейтрофилов	3,1±0,7 ^{2,3}	1,27±0,28 ¹	1,52±0,33 ¹
CD3 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,3±0,2	1,2±0,43	1,22±0,4
CD3 ⁺ -лимфоциты, %	64,5±4,2 ^{2,3}	47,3±12,0 ¹	48,2±11,6 ¹
CD4 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,9±0,2 ^{2,3}	0,47±0,17 ¹	0,5±0,17 ¹
CD4 ⁺ -лимфоциты, %	40,1±2,8 ^{2,3}	28,6±4,6 ¹	28,5±5,5 ¹
CD8 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,4±0,09 ^{2,3}	0,72±0,18 ¹	0,71±0,18 ¹
CD8 ⁺ -лимфоциты, %	25,5±4,3 ^{2,3}	44,4±4,4 ¹	44,7±2,7 ¹
CD16 ⁺ -лимфоциты, ×10 ⁹ /л	0,2±0,06 ²	0,1±0,03 ¹	0,12±0,03
CD16 ⁺ -лимфоциты, %	10,4±2,4 ^{2,3}	6,4±0,76 ¹	7,1±0,8 ¹
Индекс CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,09±0,52 ^{2,3}	0,65±0,11 ¹	0,68±0,12 ¹

Примечание: цифрами надстрочного индекса указаны группы, по отношению к которым выявлено статистически значимое различие показателей (p < 0,05); НСТ-тест — тест восстановления нитросинего тетразолия.

исследовании, возраст от 30 до 59 лет. Критериями исключения считали декомпенсированную сердечно-лёгочную недостаточность, гематологические заболевания, беременность, кормление грудью. В числе пациентов были 10 (50%) мужчин и 10 (50%) женщин, средний возраст 50,7±7,8 года. Все больные получали стандартное лечение, включавшее антибактериальные, противовоспалительные препараты, физиотерапию, перевязки. У всех больных до начала лечения и перед выпиской из стационара производили забор 10 мл венозной крови для исследования иммунного и цитокинового статуса.

В группу контроля вошли 20 клинически здоровых доноров крови в возрасте от 30 до 59 лет. По полу и возрасту исследуемые группы были сопоставимы.

Для оценки иммунного статуса исследовали показатели клеточного и гуморального иммунитета. О состоянии функционально-метаболической активности нейтрофилов крови судили по фагоцитарному числу и фагоцитарному показателю, на основе которых вычисляли индекс активности фагоцитов и завершенность фагоцитоза [4]. Кислород-зависимую активность бактерицидных систем нейтрофилов изучали в тесте восстановления нитросинего тетразолия с расчётом индекса стимуляции нейтрофилов [4].

Фенотипы популяций лимфоцитов крови (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺) определяли с помощью набора реагентов «МКА Клоноспектр» («Клоноспектр», Москва) методом иммунофлюоресценции.

Концентрацию иммуноглобулинов А, М и G, интерлейкина-1β (ИЛ-1β), рецепторного антагониста ИЛ-1, фактора некроза опухоли альфа, интерферона γ, ИЛ-2, -4, -6 и -10 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакетов прикладных программ «Excel» и «Statistica 10». Для сравнения иммунологических показателей групп использовали непараметрический вариант критерия Ньюмена-Кейлса [3].

Длительность стационарного лечения пациентов основной группы составила 21,8±9,6 дня. У всех больных диагностирован экзогенный контактный хронический остеомиелит. У 13 (65%) больных остеомиелит развился на фоне сахарного диабета 2-го типа. У 7 (35%) пациентов остеомиелит сочетался с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. У 13 (65%) больных течение остеомиелита осложнилось появлением свищей, у 5 (25%) пациентов диагностирована флегмона стопы, в 2 (10%) случа-

Таблица 2

Содержание иммуноглобулинов и цитокинов у больных до и после стандартного лечения

Показатель	Группа контроля (n=20), M±σ	Основная группа (n=20) до лечения, M±σ	Основная группа (n=20) после лечения, M±σ
	1	2	3
Интерлейкин-1β, пг/мл	3,2±1,8 ^{2,3}	143,3±31,3 ^{1,3}	26,2±6,8 ^{1,2}
Фактор некроза опухоли альфа, пг/мл	1,9±0,9 ^{2,3}	70,3±12,9 ^{1,3}	21,9±4,8 ^{1,2}
Интерлейкин-6, пг/мл	3,1±2,1 ^{2,3}	109,3±23,7 ^{1,3}	14,9±3,3 ^{1,2}
Интерферон γ, пг/мл	3,5±2,3 ^{2,3}	95,8±22,1 ^{1,3}	30,2±8,5 ^{1,2}
Рецепторный антагонист интерлейкина-1, пг/мл	236,3±84,3 ^{2,3}	1258,5±224,0 ^{1,3}	828±44,6 ^{1,2}
Интерлейкин-2, пг/мл	1,1±0,9 ^{2,3}	45,3±13,6 ^{1,3}	10,4±3,2 ^{1,2}
Интерлейкин-4, пг/мл	2,4±1,5 ^{2,3}	33,3±10,7 ¹	24,1±4 ¹
Интерлейкин-10, пг/мл	11,0±5,4 ^{2,3}	100,8±14,5 ^{1,3}	42,8±7,1 ^{1,2}
Иммуноглобулин А, г/л	2,0±0,5	1,2±0,3	1,2±0,5
Иммуноглобулин М, г/л	1,7±0,7	1,2±0,3 ³	2,4±0,5 ²
Иммуноглобулин G, г/л	10,7±2,9	8,0±1,6	9,7±2,3

Примечание: цифрами надстрочного индекса указаны группы, по отношению к которым выявлено статистически значимое различие показателей (p < 0,05).

ях отмечен абсцесс пальца стопы, у 5 (25%) больных развилась трофическая язва, у 1 (5%) пациента выявлен патологический перелом фаланги пальца стопы.

Оценка клеточного звена врождённого иммунитета у больных остеомиелитом до начала лечения выявила существенные отличия исследуемых показателей от данных группы контроля (табл. 1). Развитие заболевания характеризовалось статистически значимо более низкими фагоцитарными показателем и числом, завершённой фагоцитоза, индексом активности фагоцитов, значением стимулированного теста восстановления нитросинего тетразолия и индекса стимуляции нейтрофилов. Абсолютное количество CD3⁺-лимфоцитов не отличалось от показателей контроля, тогда как процентное содержание CD3⁺-клеток было ниже нормы. На фоне снижения абсолютного и относительного содержания CD4⁺- и CD16⁺-клеток у больных остеомиелитом количество CD8⁺-лимфоцитов было статистически значимо выше значений здоровых людей. Это привело к тому, что соотношение CD4⁺/CD8⁺ было в 3,2 раза меньше показателей контроля. Всё это свидетельствует о напряжённости иммунного ответа, истощении функционального резерва нейтрофилов и развитии иммунодефицита со стороны клеточного звена врождённого иммунитета у пациентов с остеомиелитом.

Исследование сыворотки крови у больных хроническим остеомиелитом выявило достоверное повышение уровня всех исследуемых цитокинов по сравнению с нормой

(табл. 2). Среди провоспалительных цитокинов наиболее высокие значения показателей по сравнению с группой контроля отмечены для ИЛ-1β (в 44,8 раза) и ИЛ-2 (в 41,1 раза). С учётом выявленной у больных реакции клеточного звена врождённого иммунитета и данных литературы об источниках секреции этих цитокинов их чрезмерный синтез может быть обусловлен повышенной активностью Т-лимфоцитов как компенсаторной реакцией на снижение их содержания в крови. Концентрация противовоспалительных цитокинов также была повышена (в основном это касалось ИЛ-4), однако степень увеличения была меньшей, чем у провоспалительных. Причём необходимо обратить внимание на тот факт, что концентрация рецепторного антагониста ИЛ-1, являющегося регулятором активности ИЛ-1 — мощного цитокина воспаления, была повышена всего в 5,3 раза по сравнению с нормой. Такой дисбаланс соотношения рецепторного антагониста ИЛ-1 и ИЛ-1β свидетельствует о нарушении функционирования как цитокиновой сети организма, так и иммунной системы в целом. Кроме того, повышение по сравнению с контролем концентрации ИЛ-2 (в 41,1 раза) и интерферона γ (в 27,4 раза) свидетельствует об активности Т-хелперов I-го типа. Среди цитокинов, синтезируемых Т-хелперами 2-го типа, наиболее высокая концентрация зарегистрирована у ИЛ-6 (в 35,3 раза выше нормы). Содержание же ИЛ-4 было в 13,9 раза, а ИЛ-10 — в 9,2 раза выше контроля. Учитывая это, а также высокое содержание в сыво-

ротке крови интерферона γ , можно прийти к заключению о преимущественной дифференцировке Т-хелперов I-го типа. При этом достоверных изменений содержания иммуноглобулинов не отмечено.

На фоне стандартного курса лечения из-за прогрессирования гнойного процесса у 3 (15%) больных была выполнена резекция фаланги пальца, у 3 (15%) пациентов — экзартикуляция I и II пальцев с резекцией плюсневой кости. Последние операции существенно снижали опороспособность стопы и активность пациентов в послеоперационном периоде. Частичная хирургическая обработка гнойного очага по поводу абсцесса и флегмоны произведена у 7 (35%) человек.

После проведенного стандартного курса лечения реакция клеточного звена врожденного иммунитета включала только фагоцитарное число и завершенность фагоцитоза, которые увеличились, оставаясь по-прежнему ниже значений здоровых людей (см. табл. 1).

Значительно более выраженной была реакция со стороны исследованных цитокинов. Стандартное лечение привело к достоверному снижению уровня как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, который, однако, не достиг значений контроля (см. табл. 2). Наиболее выраженная реакция зафиксирована со стороны ИЛ-1 β , -2 и -6. Среди провоспалительных цитокинов наибольшее отклонение от нормы отмечено в случае фактора некроза опухоли альфа и ИЛ-2. Среди противовоспалительных цитокинов на фоне снижения уровня рецепторного антагониста ИЛ-1 и ИЛ-10 концентрация ИЛ-4 осталась по-прежнему высокой (в 10 раз больше нормы). Высокое содержание ИЛ-4 на фоне снижения уровня провоспалительных цитокинов свидетельствует о дифференцировке Т-хелперов 2-го типа и активации гуморального звена иммунитета на фоне проводимой терапии, что подтверждается увеличением в 2 раза концентрации иммуноглобулина М. Дисбаланс между уровнями ИЛ-1 β и рецепторного антагониста ИЛ-1, хотя и уменьшился, но продолжал сохраняться.

ВЫВОДЫ

1. Развитие хронического остеомиелита костей стопы характеризуется формированием супрессии фагоцитарного звена иммунитета, снижением абсолютного и относительного числа НК-клеток, Т-хелперов и увеличением содержания Т-цитотоксических лимфоцитов. Это сопровождается выраженным повышением концентрации про- и противовоспалительных цитокинов с нарушением функционирования как цитокиновой сети организма, так и иммунной системы в целом.

2. Проведение больным стандартного курса лечения позволяет снизить выраженность дисбаланса цитокинового звена, фагоцитарного числа и завершенности фагоцитоза, но не приводит к нормализации исследованных показателей иммунного и цитокинового статуса.

3. Всё это свидетельствует о необходимости включения в схему лечения хронического остеомиелита костей стопы иммуномодулирующих препаратов, воздействующих на клеточное звено врожденного иммунитета и цитокиновый статус.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амирасланов Ю.А. Современные принципы хирургического лечения хронического остеомиелита // Инфекц. в хир. — 2004. — Т. 2, №1. — С. 8-13.
2. Белохвостикова Ю.С., Леонова С.Н., Винник Ю.С. Иммунокоррекция хронических форм раневой инфекции // Мед. иммунол. — 2006. — №8. — С. 429-430.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
4. Караулов А.В., Ликов В.Ф., Евсегнеева И.В., Кокушков Д.В. Оценка различных методов иммуномониторинга при проведении иммунокоррекции // Аллергол. и иммунол. — 2005. — Т. 6, №2. — С. 136-137.
5. Корженевский А.А. Обоснование выбора препарата для иммунотерапии хронического остеомиелита // Аллергол. и иммунол. — 2008. — Т. 9, №2. — С. 227-230.
6. Сепиашвили Р.И. Дифференцированная иммунотерапия при хирургических гнойно-воспалительных заболеваниях // Аллергол. и иммунол. — 2009. — Т. 10, №1. — С. 5-16.