УДК 617.76-001.4-089:844:612.017.4

Стан факторів гуморального імунітету в периферичній крові у хворих з фронто-орбітальною травмою в віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу

О. Д. Бондарчук [1, 2], В. В. Кіщук [1], О. Ф. Мельников [3], М. Д. Тимченко [3], Н. Д. Дідик [2]

[1] Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова;
Вінниця (Україна)

[2] Обласна клінічна лікарня ім. М. І. Пирогова;
Вінниця (Україна)

[2] Інститут отоларингології ім. проф. О. С. Коломійченка НАМН;
Київ (Україна)

E-mail: eskulap20009@gmail.com

Мета. *Виявити вплив біокомпозиту на стан імунної системи хворих з травмами лобної кістки (ТЛК) через 9 і більше місяців після хірургічного лікування з застосуванням композиційного матеріалу.*

Матеріал і методи. *Обстежено 20 хворих з травмою лобної кістки (ТЛК) у віддаленому періоді (9 і більше місяців після хірургічного лікування). Крім того, було обстежено 10 пацієнтів, які представляли контрольну групу аналогічного віку. Виділено дві групи пацієнтів після ТЛК : з хорошим перебігом і хворих з проблемним перебігом післяопераційного періоду. В крові визначали вміст імуноглобулінів класів M,G,A,E, інтерлейкінів 1 і 10, трансформуючого фактора росту-β, ЦІК, γ-інтерферону, аглютинуючих антитіл до антигенів алогенної сполучної тканини. Статистика – непараметричний односторонній критерій U- Вілкоксона, критерій t - Ст'юдента.*

Результати. *Серед хворих з травмами лобної кістки у віддаленому періоді виявлено дві групи хворих з різними варіантами перебігу після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційних матеріалів. В групі з проблемним перебігом відмічена стимуляція про- і протизапальних цитокінів, відсутність змін в рівні імуноглобулінів і ЦІК порівняно з контролем і групою з благоприємним перебігом післяопераційного віддаленого періоду. Разом з тим в групі з проблемною регенерацією виявлено зниження ростового фактора TGF-1β, γ-інтерферону, які можна розглядати як патогенетично значущі фактори, що беруть участь в процесах регенерації. Гуморальної аутоімунної реакції на антигени сполучної тканини не виявлено.*

Висновки. *В віддаленому періоді після травми лобної кістки виявлено два варіанта перебігу захворювання. При проблемному характері регенерації підвищується рівень про- і протизапальних цитокінів, знижується вміст в крові трансформуючого фактора росту-β і, особливо, γ-інтерферону. Аутоімунних реакцій гуморального походження у всіх групах хворих з ТЛК не виявлено. Припускається участь стресових механізмів зниження імунітету.*

Ключові слова:
травма, імуноглобуліни, цитокіни, ростовий фактор, імунні комплекси, гуморальні аутоімунні реакції

Актуальність. Відомо, що при травмах черепа як в найближчому, так і у віддаленому періодах спостерігається істотна реакція імунної системи на травму, яка виражається в змінах рівня реакцій імунітету в початковій стадії після травми і можливим розвитком аутоімунних реакцій в пізньому періоді [1, 9, 13, 14]. В останні роки при хірургічному лікуванні травм лобной кістки використовуються синтетичні композиції на основі гідроапатитів (Синтекість) які здатні прискорювати остеогенез і попереджувати розвиток ліквореї та інших посттравматичних ускладнень [5, 7, 9]. Є необхідним і доцільним дослідити можливість розвитку аутоімунних процесів у відповідь на антигени сполучної тканини, хімічні компоненти матеріалу «Синтекість», антигени лімфоїдної тканини, а також стан гуморального імунітету [2, 3, 4, 6]. Особливість матеріалів із групи біокомпозитів «Синтекість» у тому, що вони є біоактивними багатофазними неорганічними композиційними матеріалами, які містять суперпозицію практично всіх фазових і хімічних компонентів, наявних у вітчизняних і закордонних матеріалах подібного призначення (на відміну від самих цих матеріалів, кожен з яких містить лише один-два компоненти), а також деякі нові фазові та хімічні компоненти і їх поєднання [8, 10, 11]. Завдяки цьому вдається достатньо точно планувати взаємодію цих матеріалів із тканинами організму, наприклад, передбачати утворення в матеріалі пор після імплантації чи тип біодеградації імплантату, регулювати міцність, остеокондуктивні властивості, швидкість резорбції матеріалу чи його окремих ком-

© Бондарчук О. Д., Кіщук В. В., Мельников О. Ф., Тимченко М. Д., Дідик Н. Д., 2019

понентів, покращувати механічні властивості імплантатів і регулювати зміну цих властивостей в часі [5, 7].

Мета дослідження: вивчити стан факторів гуморального імунітету в периферичній крові хворих з фронто-орбітальною травмою, зокрема лобної кістки, у віддаленому періоді (через 9 місяців і більше) після хірургічного лікування хворих з застосуванням біокомпозиційного матеріалу.

Матеріал і методи

Досліджено 20 хворих з травмою лобної кістки (ТЛК) через 9 і більше місяців після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного препарату "Синтекість", які були розділені на дві групи : А (10 пацієнтів) – з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду (тривале загоєння рани з реакцією м'яких тканин у вигляді пастозності і незначної гіперемії, у деяких хворих спостерігались виділення прозорої жовтуватої рідини) і Б (10 пацієнтів) – з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду (загоєння відбувалось протягом 1-2 тижнів, без реакції навколишніх тканин). Контрольну группу (К) склали 10 практично здорових людей аналогічного віку. Вік пацієнтів коливався від 14 до 65 років, 14 з яких були чоловічої статі і 6 жіночої.

Із ліктьової вени отримували кров, із якої готували сироватку. В сироватці крові досліджували вміст імуноглобулінів класів M,G,A,E шляхом використання імуноферментного методу (реактиви ООО Хема-Медика, РФ і рідера Lab line, Австрія). Також визначали вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) з використанням 3,75% поліетиленгліколю і подальшим визначенням рівня щільності у вказаному рідері при довжині хвилі 450 нм (Е.Л. Насонов,1987), інтерлейкінів 1β-Іл-1 (прозапальний цитокін) і інтерлейкін-10 –Іл-10 (протизапальний цитокін), γ-інтерферона (Th-1) і інтерлейкіна-4 Іл-4 (Th-2), а також трансформуючого ростового фактора TGF-1β - реактиви ООО Цитокін і Вектор-Бест (РФ). За допомогою реакції непрямої гемаглютинації по Boyden (Kabat,Mayer,1968) визначали наявність антитіл до білково-полісахаридного комплексу антигена сполучної тканини людини типу Cole (В.Д. Яковенко,1985).

Статистична обробка проведена з використанням непараметричного одностороннього критерію U (Вілкоксона) і критерію "t" (Ст'юдента) відповідно рекомендаціям Є.В. Гублера (1990) по програмі Біостатистика-6.

Результати досліджень

Вміст імуноглобулінів класів M, G, A, E в сироватці периферичної крові хворих з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з застосуванням біокомпозиційного матеріалу і в контрольній групі практично здорових осіб представлено в таблиці 1.

З даних таблиці 1 видно, що вміст імуноглобулінів класів M, G, A в сироватці крові у обстежуваних хворих з ТЛК обох груп статистично значимо не відрізнявся (p>0,05) від пацієнтів контрольної групи. У той же час, рівень імуноглобуліну E був достовірно більш високим в групі А (126 МЕ/мл) порівняно з пацієнтами групи Б (69 МЕ/мл) і здоровими донорами (p>0,05).

Таблиця 1. Вміст імуноглобулінів класів M,G,A (МЕ/мл) в сироватці периферичної крові хворих з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з застосуванням біокомпозиційного матеріалу і в контрольній групі практично здорових осіб

Показники	Групи досліджуваних		
	А	Б	К
IgM	0,9	1,2	1,3
IgG	9	10	11
IgA	1,2	1,7	1,5
IgE	126	80	55

Примітка: А – група хворих з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду; Б – група хворих з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду; К – група контролю практично здорових осіб.

Результати визначення цитокінів з протилежним характером впливу: Іл1β, Іл-10 γ-інтерферон, Іл-4 представлені в таблиці 2.

Із представлених в таблиці 2 даних випливає, що прозапальний цитокін Іл-1β у віддаленому періоді після лікування ТЛК залишався на більш високому рівні в групі А порівняно з контролем і даними групи Б. Більш високим в групі А виявлявся і протизапальний цитокін Іл-10. Основний фактор імунітету інтерферон-γ в групі Б був знижений у два рази , а в групі А – в 8,5 рази, тоді як вміст «антагоніста» даного цитокіна – інтерлейкін-4 практично не змінився.

Вміст трансформуючого фактора росту TGF-1β в сироватці периферичної крові пацієнтів з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу і у порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб представлений на рисунку 1.

Як видно на рисунку 1, вміст ростового фактора TGF-1β в сироватці периферичної крові пацієнтів з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу у пацієнтів групи А (1,7 пг/мл) був в два рази зниженим у порівнянні з пацієнтами групи Б (3,3 пг/мл) і контролем (3,7 пг/мл)

При дослідженні рівня ЦІК в сироватці периферичної крові пацієнтів з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу і у порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб статистично значущої різниці в досліджуваних групах виявлено не було (рис. 2). Рівень ЦІК в групі контролю склав 45, в групі А – 55 і в групі Б – 70 одиниць оптичної щільності (p=0,1).

Таблиця 2. Порівняльний аналіз вмісту (M±m) або (M±SD) цитокінів в периферичній крові хворих з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з застосуванням біокомпозиційного матеріалу і у порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб

Групи досліджуваних	Концентрація цитокінів, пг/мл			
	Іл-1β	Іл-10	γ-інтерферон	Іл-4
К	12,8±3,2	1,6±0,3	15,4±3,5	2,2±0,3
А	48,5±6,5*	4,8±1,0*	1,8 ±0,5**	2,0±0,3
Б	25,5±4,5	2,2±0,4	8,7±1,5	2, 1±0,4
р	*$p_u$ka<0,05; p_uk Б>0,05	*$p_u$ka<0,05; *p_uk Б>0,05	**p_ukA<0,01; *p_uk Б<0,05	>0,05

Примітка: А – група хворих з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду; Б – група хворих з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду; К – група контролю практично здорових осіб; рК-А – рівень значущості відмінностей між групами А і К; рК-Б – рівень значущості відмінностей між групами Б і К; рА-Б – рівень значущості відмінностей між групами А і Б.

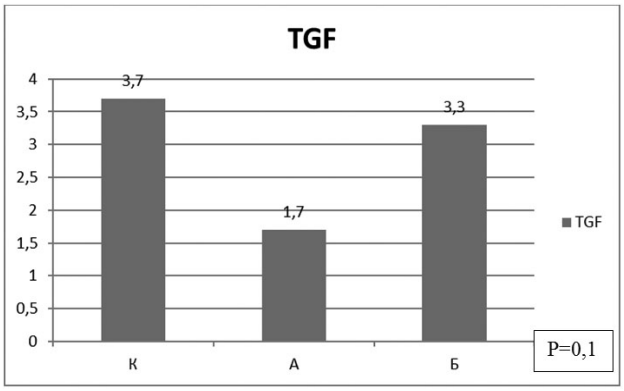

Рис. 1. Вміст трансформуючого фактора росту TGF-1β в сироватці периферичної крові пацієнтів з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу і у порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб. А – група хворих з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду; Б – група хворих з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду; К – група контролю практично здорових осіб

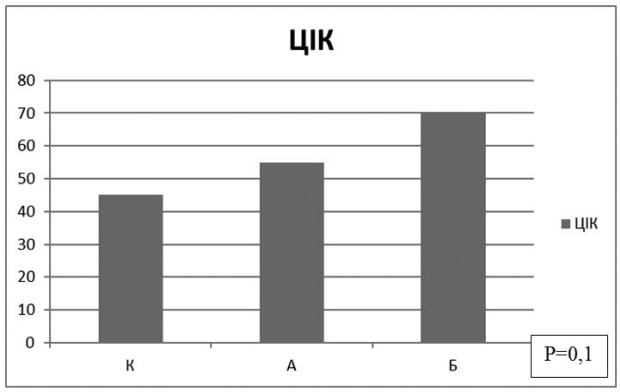

Рис. 2. Вміст (одиниці оптичної щільності) ЦІК в сироватці периферичної крові пацієнтів досліджуваних груп з ТЛК у віддаленому періоді після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу і у порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб. А – група хворих з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду; Б – група хворих з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду; К – група контролю практично здорових осіб

Визначення наявності антитіл в сироватці периферичної крові досліджуваних груп до білково-полісахаридних комплексів алогенної сполучної тканини (антиген Cole) показало, що рівні антитіл навіть у хворих з проблемним перебігом післяопераційного періоду істотно не відрізнялись від показників групи Б і пацієнтів контрольної групи (табл. 3). Ці дані можуть вказувати на відсутність аутоімунної реакції на антигени сполучної тканини при використанні біокомпозиційного матеріалу.

Таблиця 3. Середні титри антитіл до антигену Cole в сироватці периферичної крові досліджуваних груп

Групи досліджуваних	Показники титру антитіл до антигену Cole		р
	Середній титр	Мінімум-максимум	
К	1:12	0-1:20	
А	1:18	1:4-1:32	рК-А>0,05
Б	1:21	1:4 – 1:32	рК-Б>0,05

Примітка: А – група хворих з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду; Б – група хворих з хорошим клінічним перебігом післяопераційного періоду; К – група контролю практично здорових осіб; р – рівень значущості відмінностей.

Обговорення результатів

Таким чином проведені дослідження у хворих з ТЛК, пролікованих хірургічно з використанням біокомпозиційного матеріалу і які мали різний характер клінічного одужання, виявлено, що при проблемному характері одужання після ТЛК і проведених заходів

мають місце відхилення в показниках імунітету, таких як активація про- і протизапальних інтерлейкінів, що, відповідно до сучасних даних, розглядається як прояв пролонгації процесу [8, 9, 13]. Патогенетичне значення має виражене зниження в крові основного фактора імунітету – γ-інтерферона [3, 4], що припускає доцільним введення в комплексну терапію хворих з ТЛК з проблемним характером перебігу препаратів – індукторів синтезу інтерферонів. Послаблення процесів реституції у хворих з проблемним характером перебігу пояснюється і зниженням рівня ростових факторів, зокрема, трансформуючого фактора росту – TGF-1β, який відіграє роль в процесах регенерації більшості тканин організму. Можна вважати, що відсутність аутоімунної реакції на антигени сполучної тканини людини у всіх хворих з ТЛК свідчить про стресовий характер гіпоімунних відхилень.

Висновки

1. У хворих з ТЛК з проблемним клінічним перебігом післяопераційного періоду після хірургічного лікування з використанням біокомпозиційного матеріалу у віддаленому періоді спостерігаються відхилення, які проявляються в активації обох типів хелперних клітин (підвищення рівня інтерлейкінів 1 і 10).

2. Патогенетично значущим являється зниження рівнів γ-інтерферону і трансформуючого фактора росту (TGF-1β) у хворих з ТЛК, які мають проблемний характер відновлення.

3. Визначення цитокінів: інтерлейкінів 1 і 10, γ-інтерферону, трансформуючого фактора росту (TGF-1β), можна рекомендувати в якості об'єктивних показників в контролі за процесом реабілітації у хворих з ТЛК.

Література

1. **Горбунов В. И.** Иммунология травматической болезни головного мозга / В. И. Горбунов, Л. В. Лихтерман, И. В. Ганнушкина. – Л. : Ульяновск, 1996. – 528 с.
2. **Гублер Е. В.** Информатика в патологии , клинической медицине и педиатрии / Е. В. Гублер. – Л. : Медицина, 1990. – 176 с.
3. **Демьянов А. В.** Диагностическая ценность исследований уровня цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. Г. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 3. – С. 20–28.
4. **Дранник Г. Н.** Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – Киев: Полиграф плюс, 2010. – 552 с.
5. Зміни гуморального системного імунітету, як об'єктивний критерій процесу реабілітації хворих на фронто-базальну травму / В. В. Кіщук, О. Д. Бондарчук, І. В. Дмитренко [та ін.] // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2018. – № 5с. – С. 45.
6. **Кебот А.** Экспериментальная иммунохимия / А. Кебот, М. Майєр. – М. : Мир. .(пер. с анг.), 1968. – 683 с.
7. **Кіщук В. В.** Використання біокомпозитів „Синтекість" для ліквідації кістковихдефектів ЛОР-органів / В. В. **Кіщук, О. Д. Бондарчук** // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2007. – № 5с. – С. 43–44.
8. **Ковальчук Л. В.** Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 640 с.
9. **Лисяний Н. И.** Особенности развития аутоиммунных реакций при повторной ЧМТ / Н. И. Лисяний, Е. Г. Педаченко, Н. В. Каджая // Імунологія та алергологія. – 2006. – № 3. – С. 53–56.
10. **Насонов Е. Л.** Методические аспекты определения циркулирующих иммунных комплексов с использованием полиэтиленгликоля / Е. Л. Наносов // Тер.архив. – 1987. – № 4. – С. 38–45.
11. Ринітал в раціональній фармакотерапії сезонного алергічного риніту / О. Ф. Мельников, Д. І. Заболотний, Т. В. Маляренко, О. Д. Прилуцька. – Київ. : ТОВ «Вістка», 2015. – 167с.
12. **Яковенко В. Д.** Эксперимантально-клиническое обоснование аллергодиагностики хронического тонзиллита : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук : 14.00.04/ Киевский НИИ отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко / В. Д. Яковенко . – Киев, 1985. – 26 с.
13. **Matricon J.** Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease / J. Matricon, N. Barnish, D. Ardid // Self.Nonself. – 2010. – Vol. 1. – № 4. – P. 299–309.
14. The association of leukocytes with secondary brain injury / J. Zhuang, S. Shacktoro, J. D. Schmoker [et al.] // Trauma. – 1993. – Vol. 35. – P. 415–422.

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Поступила 16.07.2019

Состояние факторов гуморального иммунитета в периферической крови у больных с фронто-орбитальной травмой в отдаленном периоде после хирургического лечения с использованием биокомпозицийного материала

Бондарчук О. Д., Кищук В. В., Мельников О. Ф., Тимченко М. Д., Дидык Н. Д.

Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова; Винница (Украина)

Областная клиническая больница им. Н. И. Пирогова; Винница (Украина)

Институт отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко НАМН; Киев (Украина)

Цель. *Определить влияние биокомпозита на состояние иммунной системы больных с травмами лобной кости (ТЛК) спустя 9 и более месяцев после хирургического лечения с применением композиционного материала.*

Материал и методы. *Обследованы 20 больных с травмой лобной кости (ТЛК) в отдаленном периоде (9 и более месяцев после хирургического лечения). Кроме того, были обследованы 10 пациентов контрольной группы аналогичного возраста. Выделены две группы пациентов после ТЛК: с хорошим течением и больных с проблемным течением послеоперационного периода. В крови определяли содержание иммуноглобулинов классов M, G, A, E, интерлейкинов 1 и 10, трансформирующего фактора роста-β, ЦИК, γ-интерферона, агглютинирующих антител к антигенам аллогенной соединительной ткани. Статистика - непараметрический односторонний критерий U- Вилкоксона, критерий t - Стьюдента.*

Результаты. *Среди больных с травмами лобной кости в отдаленном периоде выявлено две группы больных с различными вариантами течения после хирургического лечения с использованием биокомпозиционных материалов. В группе с проблемным течением отмечена стимуляция про- и противовоспалительных цитокинов, отсутствие изменений в уровне иммуноглобулинов и ЦИК по сравнению с контролем и группой с благоприятным течением послеоперационного отдаленного периода. Вместе с тем, в группе с проблемной регенерацией выявлено снижение ростового фактора TGF-1β, γ-интерферона, которые можно рассматривать как патогенетически значимые факторы, участвующие в процессах регенерации. Гуморальная аутоиммунная реакция на антигены соединительной ткани не выявлена.*

Выводы*. В отдаленном периоде после травмы лобной кости обнаружены два варианта течения заболевания. При проблемном характере регенерации повышается уровень про- и противовоспалительных цитокинов, снижается содержание в крови трансформирующего фактора роста-β и, особенно, γ-интерферона. Аутоиммунные реакции гуморального происхождения у всех больных с ТЛК не выявлены. Предполагается участие стрессовых механизмов снижения иммунитета.*

Ключевые слова: *травма, иммуноглобулины, цитокины, ростовой фактор, иммунные комплексы, гуморальные аутоиммунные реакции.*