

## Оценка иммунного статуса и процессов метаболизма у пострадавших в динамике травматической болезни на основе кластерного анализа

Л.И. Донченко, А.В. Степура, И.А. Шамардина, Н.В. Анпилова

*НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета им. М.Горького, Донецк, Украина*

### РЕЗЮМЕ, ABSTRACT

В работе рассматривается целесообразность использования кластерного анализа при оценке иммунного статуса и обменных процессов у пострадавших с травмой тазобедренного сустава. Доказано, что иммунный ответ в остром периоде травмы имеет два типа реагирования иммунной системы: I тип – высокий уровень экспрессии лимфоцитами HLA-DR антигенов и количества CD-4 Т-лимфоцитов и II тип - низкий уровень HLA-DR антигенов и количества CD4+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов. I тип реакции развивается на фоне выраженных окислительных и катаболических реакций и является фактором риска развития у пострадавших различных осложнений дегенеративно-дистрофического характера (Укр.ж.телемед.мед.телемат.-2009.-Т.7,№2.-С.154-159).

**Ключевые слова:** кластерный анализ, травма, иммунный ответ, метаболизм

*Л.І.Донченко, А.В.Степура, І.А.Шамардіна, Н.В.Анпілова*

### ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ ТА ПРОЦЕСІВ МЕТАБОЛІЗМУ У ПОСТРАЖДАЛИХ В ДИНАМІЦІ ТРАВМАТИЧНОЇ ХВОРОБИ НА ОСНОВІ КЛАСТЕРНОГО АНАЛІЗУ

*НДІ травматології та ортопедії Донецького національного медичного університету ім. М.Горького, Донецьк, Україна*

В роботі розглядається доцільність використання кластерного аналізу для оцінки імунного статусу та метаболічних процесів у постраждалих з травмою кульшового суглоба. Доведено, що імунна відповідь в гострому періоді травми має два типи реагування імунної системи: I тип – високий рівень експресії лімфоцитами HLA-DR антигенів і кількості CD-4 Т-лімфоцитів та II тип - низький рівень HLA-DR антигенів і кількості CD4+ Т-лімфоцитів і CD8+ Т-лімфоцитів. I тип реакції розвивається на тлі окислювальних та катаболічних реакцій і є чинником ризику розвитку у постраждалих ускладнень дегенеративно-дистрофічного характеру (Укр.ж.телемед.мед.телемат.-2009.-Т.7,№2.-С.154-159).

**Ключові слова:** кластерний аналіз, травма, імунна відповідь, метаболізм

*L.I.Donchenko, A.V.Stepura, I.A.Shamardina, N.V.Anpilova*

### ESTIMATE OF THE IMMUNE STATUS AND PROCESSES OF A METABOLISM FOR THE INJURED IN THE DYNAMICS OF TRAUMATIC ILLNESS ON THE BASIS OF CLUSTER ANALYSIS

*R&D Institute of Traumatology and Orthopedy of Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Ukraine*

Article has described the expediency of usage of cluster analysis at an estimate of the immune status and metabolic processes for the injureds with a trauma of a hip joint. Immune answer in acute period of a trauma has two types of reacting of the immune system - I the type - high level expretion by lymphocytes HLA-DR of antigenes and amount CD-4 of T-lymphocytes and II the type - low level HLA-DR of antigenes and amount CD4+ T-lymphocytes and CD8+ B-lymphocytes. I the type of response develops on a background of the expressed oxidizing and catabolic responses and is a risk factor of development for the injureds of various complications degenerative character (Ukr. z. telemed. med. telemat.-2009.-Vol.7,№2.-P.154-159).

**Key words:** cluster analysis, trauma, immune answer, metabolism

Известно, что иммунный и метаболический ответ на травму у пострадавших имеет существенные различия, несмотря

на сопоставимые характер и тяжесть повреждений [3, 5]. Проблема многовариантности метаболического и иммунного

ответа на травму опорно-двигательной системы не решена до настоящего времени, что обусловлено сложностью создания однородных групп многомерных объектов. В настоящее время методы кластерного анализа рассматриваются как объективные, легко воспроизводимые способы такого разделения больных на однородные группы, что позволит более глубоко оценить компенсаторно-адаптивные реакции организма на травму опорно-двигательного аппарата [7].

Известно, что при травме гены системы HLA и их антигены принимают самое непосредственное участие на всех стадиях иммунного ответа, обеспечивая взаимодействие не только между иммунокомпетентными клетками, но и между любыми клетками организма. В последние годы предметом особо пристального внимания иммуногенетиков и иммунологов являются антигены HLA-DR, поскольку с ними, как полагают, связаны гены иммунного ответа человека [6]. HLA-DR-антигены экспрессированы в основном на В-лимфоцитах и макрофагах, а также выявляются на эпидермальных и эндотелиальных клетках. На Т-клетках HLA-DR –антигены в обычном состоянии не обнаруживаются, но, будучи активированными митогенами или аллогенными лимфоцитами, они экспрессируют антигены примерно на том же уровне, что и В-лимфоциты. Возможно, этот факт имеет определенный биологический смысл, ибо экспрессия генов ведет к взаимодействию клеток с разви-

тием целой цепи последовательных событий и, возможно, как стимулирующий фактор, индуцирующий иммунную реакцию, она должна проявляться только при необходимости [1].

Сведения относительно экспрессии HLA-DR-антигенов различными клетками у травмированных пациентов весьма немногочисленны. Имеются работы, где авторы отмечают снижение экспрессии HLA-DR моноцитами (CD13) в остром периоде травмы [9]. И.В.Осиповой и соавт. [4] выявлена зависимость уровня экспрессии HLA-DR от тяжести и характера травмы. Так, авторами показано, что у пострадавших с сочетанной травмой содержание цитотоксических Т-лимфоцитов и мононуклеаров, экспрессирующих молекулы HLA-DR, существенно ниже, чем у пострадавших с черепно-мозговой травмой и монотравмой конечностей.

Marcus Ditschkowski и соавт. [8], исследуя особенности иммунного ответа у пострадавших без инфекционных осложнений и сепсисом посттравматического генеза, выявил у последних более выраженное снижение уровня экспрессии HLA-DR как в лимфоцитах, так и в моноцитах.

Аналогичные данные были получены и Е.К Гуманенко с соавт. [2]. При этом авторы отмечают, что у пострадавших с сепсисом низкий уровень экспрессии HLA-DR – антигенов сохранялся вплоть до 14-х суток после травмы.

### **Цель исследования**

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей иммунного ответа и метаболических процессов у пострадавших с травмой тазобедренного сустава в остром и раннем периодах травматической болезни.

Основная задача состояла в оценке у пострадавших с травмой тазобедренного сустава иммунной реактивности и изменений обменных процессов на основании кластерного анализа.

### **Материал и методы**

Проведено клиничко-лабораторное обследование 24 пострадавших, находившихся на лечении по поводу травмы тазобедренного сустава в областной травматологической больнице г.Донецка.

Возраст пациентов колебался от 46 до 70 лет. В качестве контроля обследованы 16 практически здоровых лиц. Иммунологическое обследование пострадавших проводилось в 1-е–3-и и 12-14-е су-

тки после травмы и предусматривало определение в периферической крови лейкоцитов, форменных элементов крови и содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, HLA-DR. Субпопуляции Т-лимфоцитов оценивали количественно с помощью моноклональных антител иммунофлюоресцентным методом с использованием FITC окраски. Материалом для исследования HLA-DR служили лимфоциты периферической крови. Биохимические исследования предусматри-

вали исследование в сыворотке крови показателей белкового, углеводного и липидного обмена с помощью биохимического анализатора "Microlite 2+3" фирмы KONE, анализатора "Kone Progress Plus" (Финляндия) и денситометра "Process-24-VISU" (Франция). Для статистической обработки использовались модули Basic Statistics и Cluster Analysis программы Statistica for Windows (StatSoft).

### Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что у пострадавших в остром периоде травмы на фоне выраженного лейкоцитоза имели место перераспределительные реакции в содержании форменных элементов крови, которые характеризовались снижением содержания в периферической крови лимфоцитов, моноци-

тов и эозинофилов и повышением уровня нейтрофилов. Среднее содержание HLA-DR-антигенов и иммунокомпетентных клеток в периферической крови пострадавших достоверно не отличалось от контроля, хотя и прослеживалась выраженная тенденция к их снижению (табл.1).

Таблица 1. Особенности изменений иммунного статуса у пострадавших с травмой тазобедренного сустава

| Показатели                         | Контроль  | 1-3 сутки | 14 сутки   |
|------------------------------------|-----------|-----------|------------|
| Лейкоциты, Г/л                     | 6,74±0,5  | 10,4±0,8* | 7,19±0,6#  |
| Лимфоциты, кл/мкл ×10 <sup>3</sup> | 2,57±0,22 | 1,94±0,2* | 1,87±0,22* |
| CD3+, кл/мкл ×10 <sup>3</sup>      | 0,73±0,09 | 0,65±0,07 | 0,53±0,06* |
| CD4+, кл/мкл ×10 <sup>3</sup>      | 0,45±0,05 | 0,34±0,04 | 0,29±0,03* |
| CD8+, кл/мкл ×10 <sup>3</sup>      | 0,33±0,08 | 0,29±0,06 | 0,27±0,07  |
| CD19+, кл/мкл ×10 <sup>3</sup>     | 0,44±0,06 | 0,37±0,06 | 0,33±0,04  |
| HLA-DR, кл/мкл ×10 <sup>3</sup>    | 0,46±0,07 | 0,35±0,05 | 0,32±0,07  |

\* - статистически значимые различия с  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

# - статистически значимые различия с  $p < 0,05$  по сравнению с 1-3-ми сутками

К 14-м суткам после травмы у пострадавших нормализовались показатели лейкоцитов и форменных элементов крови. Но при этом сохранялись сниженные относительно контроля показатели лимфоцитов. Уровень экспрессии лимфоцитами HLA-DR-антигенов и количество иммунокомпетентных клеток существенно не отличались от значений острого периода травмы.

Использование методов кластерного анализа при статистической обработке полученных результатов исследований позволило более глубоко раскрыть особенности иммунного ответа пострадавших на травму. Известно, что кластер-

ный анализ позволяет на основании нескольких выбранных исследователем показателей выделить группы с определенным типом реагирования изучаемой системы. В нашем случае показателями, по которым проводился кластерный анализ, были следующие: CD3+ Т-лимфоциты, CD4+ Т-хелперы-индукторы, CD8+Т-супрессорно-цитотоксические, CD19+В-лимфоциты, HLA-DR+. На основании кластерного анализа данных иммунологических показателей были выделены две группы пострадавших, различающиеся между собой по содержанию иммунокомпетентных клеток в остром периоде травмы (рис.1).

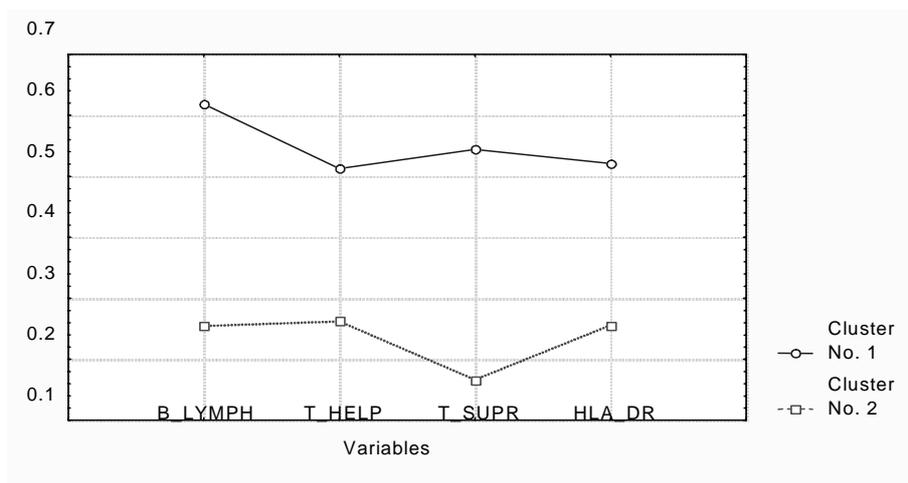


Рисунок 1. Профили иммунологических данных пострадавших с I (кластер 1) и II (кластер 2) типами иммунологической реактивности

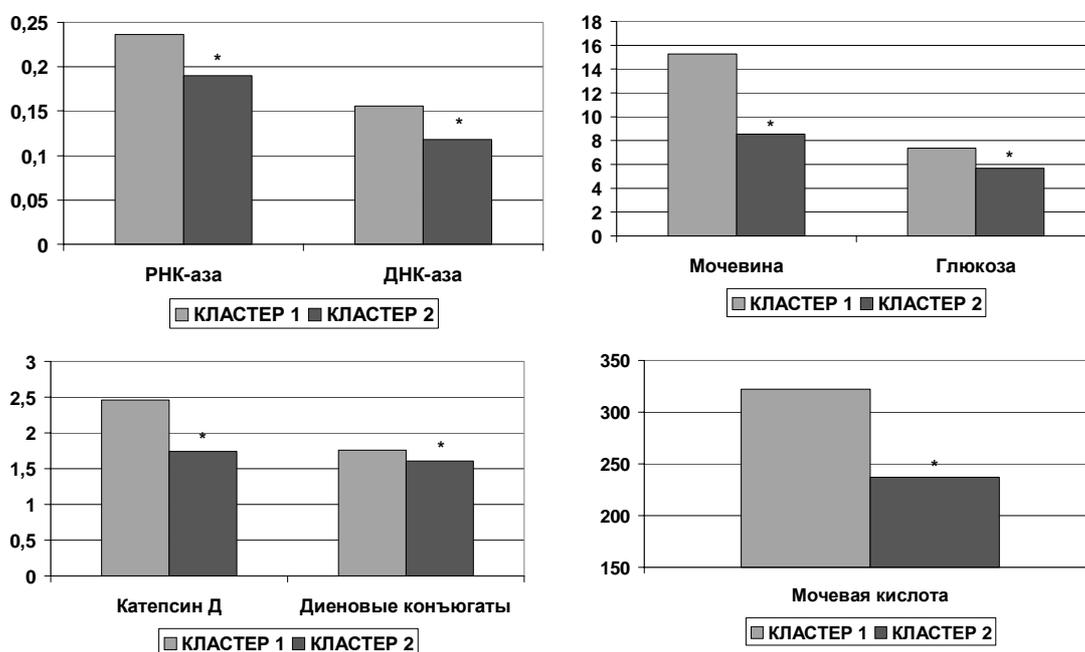


Рисунок 2. Биохимические показатели пострадавших с I (кластер 1) и II (кластер 2) типами иммунологической реактивности в остром периоде травмы

Выявленные различия в содержании иммунокомпетентных клеток и уровня экспрессии лимфоцитами HLA-DR-антигенов позволяют констатировать факт существования у пострадавших различных типов иммунного ответа: I тип – высокий уровень экспрессии лимфоцитами HLA-DR антигенов и количества CD4+ Т-лимфоцитов и II тип - низкий уровень HLA-DR антигенов и количества CD4+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов. Следует отметить, что II тип иммунного ответа у пострадавших отмечался в 1,8 раза чаще, чем I тип.

Установлено также, что в остром периоде травмы у пострадавших с повы-

шенной активностью клеточного звена иммунитета отмечались и более выраженные, чем у больных со II типом иммунного ответа, процессы катаболизма белков, пероксидации липидов, толерантность к глюкозе, активность лизосомальных ферментов (рис.2). Учитывая особенности метаболизма пострадавших сравниваемых групп, можно констатировать, что окислительный стресс и интоксикационный синдром в остром периоде травмы являются факторами, способствующими активации Т-супрессорно-цитотоксических лимфоцитов и экспрессии HLA-DR-антигенов.

В период 14 суток после травмы различия в содержании иммунокомпетентных клеток у больных выделенных групп были статистически недостоверны. Но при этом у пострадавших с I типом реагирования иммунной системы сохранялись более высокий уровень экспрессии

HLA-DR-антигенов и выраженная супрессия иммунного ответа. У данного контингента больных обменные процессы характеризовались более высокой активностью трансаминаз и щелочной фосфатазы (рис.3).

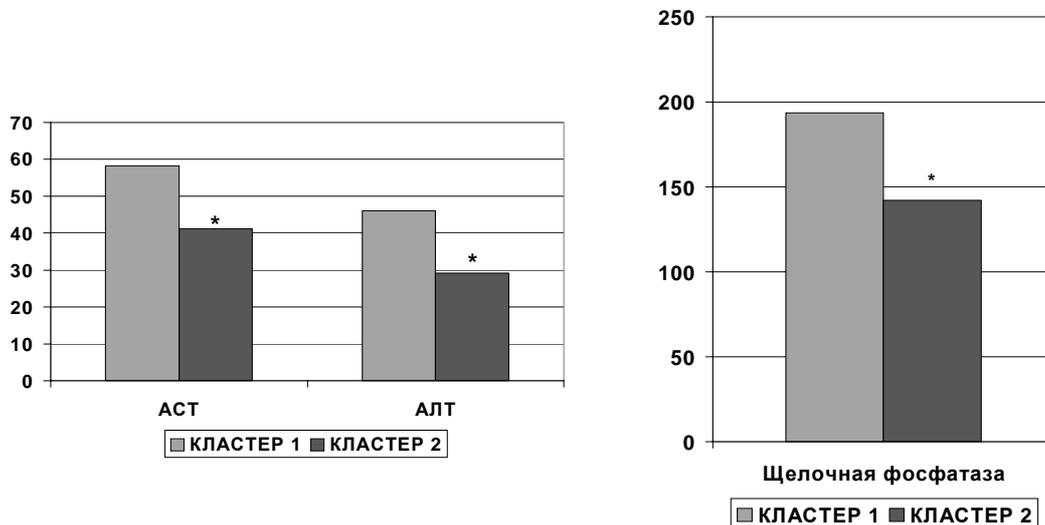


Рисунок 3. Биохимические показатели пострадавших с I (кластер 1) и II (кластер 2) типами иммунологической реактивности в раннем периоде травмы

Сопоставительный анализ течения посттравматического периода и результатов лечения пострадавших позволил установить, что у пострадавших с I типом реагирования иммунной системы воспалительные реакции сохраняются более длительный срок после травмы и частота неудовлетворительных исходов выше, чем у пострадавших со II типом. Обусловлено это тем, что гиперактивация Т-клеток в остром периоде травмы инициирует повышенную экспрессию HLA-DR-антигенов мононуклеарами, избыточную продукцию провоспалитель-

ных интерлейкинов и целый каскад межклеточных взаимодействий, которые пролонгируют воспалительные процессы, обуславливая превалирование резорбтивных процессов над репаративными.

Оценивая в целом особенности иммунного ответа на травму, следует отметить, что различия в типе иммунного ответа у пострадавших обусловлены в первую очередь характером травмы, тактикой лечения, качеством восстановления стабильности поврежденного сустава.

### Выводы

1. Кластерный анализ является объективным методом оценки многовариантности иммунного ответа и процессов метаболизма у пострадавших с травмой опорно-двигательного аппарата.

2. На основе кластерного анализа установлено, что иммунный ответ в остром периоде травмы тазобедренного сустава имеет два типа реагирования иммунной системы: I тип – высокий уровень экспрессии лимфоцитами HLA-DR антигенов и количества CD-4 Т-лимфоцитов и II

тип - низкий уровень HLA-DR антигенов и количества CD4+ Т-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов. I тип реакции развивается на фоне выраженных окислительных и катаболических реакций и является фактором риска развития у пострадавших различных осложнений дегенеративно-дистрофического характера.

3. Уровень экспрессии лимфоцитами HLA-DR-антигенов определяет особенности иммунного ответа у пострадавших в остром периоде травматической бо-

лезни. Выявленные особенности в иммунном ответе на травму тазобедренного сустава сохраняются у пострадавших и в раннем посттравматическом перио-

де, в основном, за счет различий в уровне экспрессии HLA-DR-антигенов и иммунорегуляторного индекса.

### Литература и веб-библиография

1. Арискина О.Б., Пивоварова Л.П., Осипова И.В., Логинова М.П. Иммунологические показатели как маркеры эндогенной интоксикации при шокогенной механической травме// Скорая медицинская помощь. – 2003. – Т.4, №4. – С.55-57.
2. Гуманенко Е.К., Немченко Н.С., Бояринцев В.В. и др. С-реактивный белок и цитокины при политравме//Общая реаниматология. - 2007. - Т. 3, № 5-6. - С.19-23.
3. Донченко Л.И. Интерпретация особенностей метаболических процессов в остром периоде травмы на основании результатов факторного анализа (метод главных компонент)//Український журнал телемедицини та медичної телематики. – 2007. – Т.5, №3. – С.275-278.
4. Осипова И.В., Пивоварова Л.П., Верховский А.И. и др. Особенности иммунной реактивности пострадавших в остром периоде закрытой черепно-мозговой травмы легкой степени// Материалы Юбилейной X конференции «Нейроиммунология», Санкт-Петербург, 28-31 мая 2001 г. – С.49.
5. Степура А.В., Донченко Л.И., Вдовиченко М.Д. Вариабельность значений биохимических показателей у пострадавших в остром периоде травмы опорно-двигательного аппарата//Український журнал телемедицини та медичної телематики. – 2006. – Т.4, №2. – С.191-198.
6. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е. Иммунология и иммунопатология детского возраста. – М.: Медицина, 1996. – 384 с.
7. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 215 с.
8. Ditschkowski M., Kreuzfelder E., Rebmann V. et al. HLA-DR expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma// Ann. Surg. – 1999. - 229. - P. 246–254.
9. Huschak G., K. Zur Nieden, R. Stuttmann & D. Riemann. Changes in monocytic expression of aminopeptidase N/CD13 after major trauma// Clin. Exp. Immunol. – 2003. – 134. – P. 491-496.

Надійшла до редакції: 02.03.2009.

© Л.И.Донченко, А.В.Степура, И.А.Шамардина, Н.В.Анпилова

Кореспонденція: Донченко Л.І.,  
Вул. Артема, 106, 83048, Донецьк, Україна  
E-mail: dniito@dniito.org.ua