

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПРИ СОЧЕТАННОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Член-корреспондент РАМН БАГНЕНКО С. Ф.<sup>1</sup>, ПИВОВАРОВА Л. П.<sup>1</sup>, РЫБАКИНА Е. Г.<sup>2</sup>, МАЛЫШЕВ М. Е.<sup>1</sup>, АРИСКИНА О. Б.<sup>1</sup>, ОСИПОВА И. В.<sup>1</sup>, ЧИКИН А. Е.<sup>1</sup>, ШАНИН С. Н.<sup>2</sup>, КОЗИНЕЦ И. А.<sup>2</sup>, ЧЕСНОКОВ О. Д.<sup>2</sup>, академик РАМН КОРНЕВА Е. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»,

<sup>2</sup>ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург

**Багненко С. Ф., Пивоварова Л. П., Рыбакина Е. Г., Малышев М. Е., Арискина О. Б., Осипова И. В., Чикин А. Е., Шанин С. Н., Козинец И. А., Чесноков О. Д., Корнева Е. А.** Функциональная активность моноцитов крови при сочетанной механической травме // Мед. академ. журн. 2010. Т. 10. № 1. С. 64–72. ГУ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, 192242, ул. Будапештская, 3; ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

В статье представлены результаты исследования функциональной активности моноцитов крови пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. В периоде ранних проявлений травматической болезни моноциты крови пострадавших сохраняют как регуляторные (продукция лимфоцит-активирующих факторов), так и эффекторные функции, однако резерв их активации и пролиферации тем ниже, чем тяжелее травма и шок. Прогностическими критериями развития тяжелых гнойных осложнений и сепсиса у пострадавших с сочетанной травмой явились Т-лимфоцитопения, моноцитопения и усиление оксидантной активности моноцитов крови.

*Ключевые слова:* травма, моноциты, гнойные осложнения, сепсис.

**Bagenko S. F., Pivovarova L. P., Rybakina E. G., Malyshev M. E., Ariskina O. B., Osipova I. V., Chikin A. E., Shanin S. N., Kozinets I. A., Chesnokov O. D., Korneva E. A.** Functional activity of peripheral blood monocytes after mechanical trauma // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 1. P. 64–72. Djanelidze Institute of Ambulance Medicine, St. Petersburg, 192242; Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg, 197376.

The results of studying functional activity of peripheral blood monocytes in patients after severe multitrauma have been represented. It was shown that in early period of traumatic disease peripheral blood monocytes of patients saved both regulatory functions (lymphocyte activating factors production) and effector functions, but the reserves of their activation and proliferation are the lower the more severe are the injury and the shock. It appears that T-lymphocytopenia, monocytopenia and increased oxidative activity of peripheral blood monocytes can be employed as prognostic criteria for the progression of severe purulent complications and sepsis in patients with mechanical multitrauma.

*Key words:* trauma, monocytes, purulent complications, sepsis.

Для корреспонденции: Багненко Сергей Федорович, член-корреспондент РАМН; 192242, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, д. 3, тел.: (812) 313-46-00; e-mail: surgen57@mail.ru

### ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные осложнения после сочетанных травм развиваются в среднем у 50–70% пострадавших, а сепсис – у 23% [7, 19, 26] и являются основной причиной смерти пострадавших в периоде ранних проявлений травматической болезни (ТБ). Высокая частота гнойных осложнений и сепсиса обусловлена тяжестью травматического шока как интегративного процесса, отражающего индивидуальную реакцию организма на травму и кровопотерю, и нарушениями иммунной реактивности.

Причины и механизмы нарушений функций иммунной системы, их патогенетическое значение в развитии гнойных осложнений при механической травме различной степени тяжести остаются недостаточно ясными, несмотря на многочисленность

работ, посвященных исследованию количества и функциональной активности клеток иммунной системы. Известна роль функциональной активности моноцитов/макрофагов в формировании механизмов защиты при шокогенной травме [18]. Значение провоспалительных цитокинов, продуцируемых активированными моноцитами/макрофагами – ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-6, при тяжелой механической травме и шоке исследовано преимущественно с учетом их изолированных эффектов или как индикаторов системного воспаления, диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, респираторного дистресс-синдрома [22, 30, 31].

Использование тестов, основанных на анализе активности и функциональных резервов иммунокомпетентных клеток, позволяет раскрыть механизмы нарушений защитных функций организма при кри-

тических состояниях [4], в том числе при тяжелой механической травме.

Одним из функциональных показателей является уровень продукции моноцитами крови лимфоцит-активирующих факторов (ЛАФ), представляющих комплекс продуктов активированных *in vitro* клеток, важнейшими компонентами которого являются интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и фактор некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) [6]. Эти цитокины играют важную роль в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета.

Патологические процессы, развивающиеся при тяжелой травме, вызывают нарушение местных барьеров в очаге повреждения и воспаления и поступление медиаторов воспаления, в том числе цитокинов, продуктов распада тканей и микроорганизмов в кровяное русло. Увеличение содержания ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$  и ИЛ-6 в сыворотке крови наблюдается уже при поступлении пострадавших в противошоковое отделение и через 3–4 ч после инцидента [5, 9, 11, 20, 29]. Это свидетельствует о переходе локального воспалительного процесса в системное воспаление, в которое вовлекаются различные органы и ткани.

Цель настоящего исследования состояла в изучении изменений функциональной активности моноцитов крови при различных вариантах течения травматической болезни, их связи с другими проявлениями функций иммунной системы и определении их возможного прогностического значения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 52 пострадавших с сочетанной механической травмой и шоком II и III степени, поступивших в противошоковое отделение ГУ СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе. Группу сравнения составили 14 здоровых волонтеров (средний возраст 30,1 $\pm$ 2,9 года).

В зависимости от варианта течения травматической болезни пострадавшие были разделены на 3 группы: 1) пострадавшие без инфекционных осложнений и полиорганной недостаточности (ПОН), 2) пострадавшие с гнойными осложнениями и 3) пострадавшие с посттравматическим сепсисом

(табл. 1). Тяжесть нарушения функций органов (ПОН) у пациентов оценивали по шкале SOFA через 1 и 5 сут после получения травмы.

Первую группу составили 14 пострадавших с сочетанной травмой, сопровождавшейся шоком II степени. В этой группе средний балл шокогенности (БШТ) по шкале Г. И. Назаренко составил 14,75 $\pm$ 2,25. Средний койко-день 17,8 $\pm$ 5,2 (от 13 до 37). Все пострадавшие этой группы получали лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии в течение 1–5 сут. Оперативная активность составила 100%: каждому пострадавшему выполнено от 2 до 4 операций. В дальнейшем значительных трудностей в лечении этих пациентов не было.

Вторая группа была представлена 22 пострадавшими: из них 15 – с шоком II степени, 7 – с шоком III степени. Гнойные осложнения развились на 4–6-е сут после травмы. Пневмония и гнойный трахеобронхит диагностированы у 18 пострадавших, нагноение ран – у 9, острый геморрагический цистит – у 2, инфицированные пролежни – у 3, гнойный пиелонефрит – у 2, абсцесс брюшной полости – у 2. Каждому пострадавшему этой группы выполнено от 2 до 6 операций. Летальность составила 18% (умерли 4 пациента с тяжелой посттравматической пневмонией). Средний койко-день составил 33,1 $\pm$ 3,2.

В третью группу вошли 16 пострадавших с посттравматическим сепсисом. В качестве критериев для постановки диагноза «сепсис» мы использовали рекомендации Калужской согласительной конференции, 2004 г. [8]. Все они получили тяжелые сочетанные повреждения. У 6 травма сопровождалась шоком III степени, у 10 – II степени. Каждому пациенту этой группы выполнено от 3 до 7 оперативных вмешательств. 8 человек умерли на 5, 7, 10 и 14-е сут после поступления. Летальность, таким образом, составила 50%. Продолжительность лечения выживших пациентов составила в среднем 45 $\pm$ 6,2 сут.

**Лечебная тактика** при тяжелых травмах строится на концепции травматической болезни, а также с учетом характера полученных травм и индивидуальной реактивности. На догоспитальном этапе 92% пострадавших получили медицинскую помощь и были доставлены в стационар реанимационно-хирургичес-

Таблица 1

Общая характеристика групп пострадавших с шоком II и III степени и различным исходом травматической болезни

Группы пострадавших	Количество пострадавших			Средний возраст	Средний балл шокогенности
	всего в группе	выживших	умерших		
Первая группа (без осложнений)	14 (26,9%)	14 (100%)	0 (0%)	25,5 $\pm$ 5,5	12,6 $\pm$ 3,1
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	22 (42,3%)	18 (82%)	4 (18%)	36,6 $\pm$ 7,3	15,9 $\pm$ 6,0
Третья группа (с сепсисом)	16 (30,8%)	8 (50%)	8 (50%)	36,2 $\pm$ 9,1	21,4 $\pm$ 5,3
Всего	52 (100%)	40 (77%)	12 (23%)	32,8 $\pm$ 7,1	16,6 $\pm$ 4,8

кими бригадами. Среднее время доставки составило 74 мин. На месте происшествия и во время транспортировки все пациенты получили лечение, включавшее остановку наружного кровотечения, транспортную иммобилизацию, обезболивание наркотическими анальгетиками, инфузии растворов кристаллоидов (400–1500 мл), в половине случаев вводили холинолитики (атропин), в 20% случаев – седативные препараты (реланиум) и в 85% – глюкокортикостероиды (60–240 мг преднизолона однократно).

Обследование и лечение пострадавших в стационаре начинали в противошоковой операционной, где выполняли стандартный комплекс исследований и противошоковой терапии, включающей хирургические противошоковые мероприятия (обеспечение внешнего дыхания, остановка кровотечения и стабилизация переломов). 48 пострадавших нуждались в переливании эритроцитарной массы и свежезамороженной плазмы. Антибактериальную терапию во всех случаях начинали со стандартной комбинации препаратов (цефалоспорин 1–2 поколения + аминогликозид + метронидазол). При травмах с шоком III степени использовали цефалоспорин 3-го поколения – цефтриаксон.

**Иммунологическое исследование крови** проводили через 24 ч (в периоде острой реакции на травму) и 5–6 сут после травмы (в периоде ранних проявлений ТБ). Исследовали количество лейкоцитов в крови, лейкоцитарную формулу, содержание в крови Т-лимфоцитов (CD3+), антигенпрезентирующих моноклеаров (CD HLA-DR+) и моноцитов, экспрессирующих  $\alpha$ -цепь  $\beta$ 2-интегринов (CD18<sup>+</sup>). Функциональную активность моноцитов крови пострадавших определяли по интенсивности продукции ЛАФ, уровню хемилюминесценции (ХЛ) суспензии моноцитов и интенсивности выработки ФНО- $\alpha$  моноцитами крови. Измеряли содержание ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови.

Моноклеарные клетки выделяли методом *Boyum* [12]. Фенотипирование моноцитов и лимфоцитов крови проводили иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител (NOVOCASTRA, UK).

Образование ЛАФ и ФНО- $\alpha$  моноцитами индуцировали добавлением к суспензии клеток липополисахарида (ЛПС) (*Sigma*) в концентрации 50 мкг/мл; клетки инкубировали в течение 18 ч при 37 °С в атмосфере 5% углекислого газа (CO<sub>2</sub>-инкубатор, *Flow laboratories*, UK). Лимфоцитактивирующие свойства моноцитов оценивали по их комитогенному действию на пролиферацию мышечных тимоцитов, стимулированных конканавалином А (Кон А) по методу *Rosenwasser, Dinarello* [27].

Содержание кортизола, ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови, а также ФНО- $\alpha$  в супернатантах инкубированных моноцитов определяли методом иммуноферментного анализа (ЗАО «Алкор-Био», СПб.; ООО

«Цитокин», СПб.). Спонтанную и индуцированную ХЛ моноцитов крови измеряли на люминометре 1251 (BIO-ORBIT, Финляндия). Индуцирование хемилюминесценции осуществляли, добавляя в инкубационную среду 0,2% раствор зимозана, опсонизированного компонентом.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента при помощи пакета программ «Microsoft Excel». Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пострадавших с сочетанной травмой констатировали тяжелую степень кровопотери, объем которой составлял в среднем 2325 мл (от 2000 до 3500 мл). Результаты оценки органной дисфункции представлены в табл. 2.

Таблица 2

Степень органной дисфункции у пострадавших с различным течением травматической болезни по шкале SOFA

Группы пострадавших	Сутки после травмы	
	1-е	5-е
Первая группа (без осложнений)	1,7±0,7	0,28±0,14
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	2,2±0,45	1,1±0,5
Третья группа (с сепсисом)	4,4±0,5	7,2±4,2

У пострадавших первой группы мы не наблюдали органной дисфункции, а, начиная с 3 сут после получения травмы, их состояние оценивали как компенсированное. Развитие ПОН в течение 1 сут после травмы наблюдали у больных с ранним посттравматическим сепсисом (показатель SOFA > 4), увеличение показателя SOFA до 7,2 к 5-м сут наблюдения свидетельствовало о нарастании тяжести состояния и усугублении органной дисфункции.

Иммунологическое исследование крови пострадавших позволило выявить изменения количественных и качественных характеристик иммунитета и их связь с развитием гнойных осложнений тяжелой сочетанной травмы. Важным звеном как в развитии немедленной антибактериальной резистентности, так и в индукции специфического противои инфекционного иммунитета являются моноциты и макрофаги тканей.

Количество моноцитов крови через 1 сут после инцидента у пострадавших трех анализируемых групп сохранялось в диапазоне нормальных значений. К 5-м сут после травмы только у пациентов первой группы содержание моноцитов в крови возросло более чем в 3 раза (табл. 3).

Таблица 3

**Количество моноцитов в крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Количество моноцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ )	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	0,2 $\pm$ 0,09*	0,69 $\pm$ 0,14* #
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	0,26 $\pm$ 0,14	0,37 $\pm$ 0,19
Третья группа (с сепсисом)	0,18 $\pm$ 0,14	0,22 $\pm$ 0,11
Здоровые взрослые	0,31 $\pm$ 0,12	

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с количеством моноцитов в крови здоровых людей. # –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем на 1-е сут после ТМТ.

При исследовании функциональной активности моноцитов крови пострадавших нами были выявлены особенности изменения функций клеток у пострадавших с различным течением травматической болезни.

Одним из функциональных показателей, характеризующих способность моноцитов крови к индукции клеточного и гуморального иммунитета, является продукция лимфоцитактивирующих факторов. Исследование лимфоцитактивирующих свойств моноцитов крови пострадавших с сочетанной трав-

мой в 1-е сут после инцидента показало, что клетки сохраняли способность к стимуляции Т-зависимого иммунного ответа (табл. 4). У пострадавших с сепсисом мы наблюдали почти 2-кратное увеличение спонтанной продукции ЛАФ на 5-е сут после травмы по сравнению с уровнем ее у здоровых людей. Однако дополнительная стимуляция ЛПС моноцитов крови *in vitro* пострадавших с гнойными осложнениями и сепсисом не вызывала усиления комитогенного эффекта клеточных супернатантов, в то время как у больных первой группы отмечалось усиление бласттрансформации мышинных тимоцитов на 27% (табл. 4).

Провоспалительные цитокины, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , при тяжелой механической травме играют важную роль как в формировании иммунитета, воспаления и противинфекционной защиты, так и в развитии патологических процессов, прежде всего в периоде острой реакции на повреждение. Продукция *in vitro* ФНО $\alpha$  моноцитами крови пострадавших с инфекционными осложнениями и посттравматическим сепсисом – спонтанная и стимулированная бактериальным ЛПС – сохранялась в пределах нормальных значений. У пострадавших без гнойных осложнений травматической болезни наблюдалось снижение спонтанной продукции ФНО $\alpha$ , а уровень стимулированной продукции находился в пределах нормальных значений на протяжении всего периода наблюдения (табл. 5).

Таблица 4

**Спонтанная и стимулированная ЛПС *in vitro* продукция ЛАФ моноцитами крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	ЛАФ-активность инкубатов моноцитов (с. р. м.)			
	1-е сут		5-е сут	
	Без стимуляции	Стимуляция ЛПС	Без стимуляции	Стимуляция ЛПС
Первая группа (без осложнений)	4900 $\pm$ 1600	–	4700 $\pm$ 1100	6450 $\pm$ 1500
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	4100 $\pm$ 1800	5420 $\pm$ 1900	5900 $\pm$ 2700	6110 $\pm$ 2400
Третья группа (с сепсисом)	5600 $\pm$ 1000	5890 $\pm$ 1000	7500 $\pm$ 1500*	7610 $\pm$ 1730
Здоровые взрослые	3800 $\pm$ 400	5800 $\pm$ 550	3800 $\pm$ 400	5800 $\pm$ 550

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с активностью ЛАФ моноцитов крови здоровых людей.

Таблица 5

**Спонтанная и стимулированная *in vitro* продукция ФНО- $\alpha$  мононуклеарными фагоцитами пациентов с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Концентрация ФНО- $\alpha$ в супернатантах моноцитов (пг/мл)			
	1-е сут		5-е сут	
	Без стимуляции	Стимуляция ЛПС	Без стимуляции	Стимуляция ЛПС
Первая группа (без осложнений)	354 $\pm$ 107*	686 $\pm$ 12	465 $\pm$ 69*	591 $\pm$ 103
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	650 $\pm$ 58	687 $\pm$ 13	695 $\pm$ 35	694 $\pm$ 21
Третья группа (с сепсисом)	560 $\pm$ 92	674 $\pm$ 27	690 $\pm$ 37	694 $\pm$ 26
Здоровые взрослые	662 $\pm$ 21	671 $\pm$ 16	662 $\pm$ 21	671 $\pm$ 16

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с концентрацией ФНО- $\alpha$  в супернатантах моноцитов крови здоровых людей.

Исследование содержания ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  в сыворотке крови пострадавших через 1 и 5 сут после травмы обнаружило, что во всех трех группах уровень ИЛ-1 $\beta$  находился в диапазоне от 2,1 до 3,3 пг/мл (норма 3,5 $\pm$ 1,7 пг/мл), ФНО $\alpha$  – в диапазоне от 0,4 до 2,2 пг/мл (норма 0,9 $\pm$ 0,3 пг/мл).

Анализируя результаты исследования уровня лимфоцитактивирующих факторов и уровня продукции ФНО- $\alpha$ , продуцируемых моноцитами, можно предположить одновременное присутствие в клеточных супернатантах факторов, супрессирующих активность Т-лимфоцитов, в частности ИЛ-10. Так, в ранней фазе воспаления именно активированные моноциты являются основными продуцентами ИЛ-10, увеличение содержания которого в сыворотке крови уже в первые сутки после случайной или оперативной травмы рассматривается как предиктор развития сепсиса [24].

Дальнейший анализ функциональной активности моноцитов крови также продемонстрировал качественные различия функций клеток при различном течении тяжелой механической травмы. Необходимым условием развития реакций клеточного и гуморального иммунитета является непосредственный клеточный контакт, осуществляемый посредством экспрессии на клеточной поверхности моноцитов молекул адгезии, в частности  $\alpha$ -цепи  $\beta$ 2-интегринов (CD18), и презентация бактериальных антигенов Т-лимфоцитам через взаимодействие экспрессируемых, преимущественно моноцитами, антигенов II класса ГКГС (HLA-DR) с рецепторами зрелых Т-клеток. Молекулы CD3 Т-клеточного рецептора осуществляют распознавание представляемого антигена и проведение сигнала активации внутрь клетки [10]. Так, данные, полученные Faist E. et al. [14]; Zahorec R. C. et al. [32], свидетельствуют о выраженном снижении экспрессии HLA-DR-антигенов моноцитами крови при тяжелой механической травме.

Анализ содержания CD18 $^{+}$  мононуклеаров в крови пострадавших показал, что на 1-е и 5-е сут после получения травмы их количество сохраняется в пределах нормальных значений и имеет тенденцию к увеличению лишь у пациентов без гнойных осложнений травматической болезни и у пострадавших с посттравматическим сепсисом (табл. 6).

Количество HLA-DR $^{+}$  мононуклеаров в 1-е сут после инцидента у пострадавших всех групп не отличалось от содержания их в крови здоровых людей. На 5-е сут после травмы количество антигенпрезентирующих клеток возрастало в 2 раза по сравнению с исходным уровнем у пациентов первой группы, в то время как у пострадавших второй и третьей групп этот показатель оставался в пределах нормальных величин, несмотря на развитие гнойных осложнений (табл. 7). Тем не менее у больных с сепсисом

наблюдалась отчетливая тенденция к увеличению количества HLA-DR $^{+}$  клеток без увеличения общего числа моноцитов в крови (табл. 3).

Как известно, острое нарушение кровоснабжения кишок и развитие тканевой гипоксии создают условия для транслокации антигенов условнопатогенных и патогенных бактерий со слизистой оболочки кишки в кровь [17, 25]. При открытых повреждениях тканей возможно инфицирование ран экзогенной микрофлорой. Естественным следствием бактериемии можно предположить увеличение содержания в крови активированных моноцитов, в том числе экспрессирующих HLA-DR-антигены и призванных индуцировать развитие эффективного противобактериального иммунитета.

Учитывая реальные условия для бактериальной транслокации со слизистых оболочек кишки или верхних дыхательных путей в кровь, наличие гнойных процессов именно в периоде ранних проявлений ТБ, полученные результаты свидетельствуют о недостаточности антигенпрезентирующей функции моноцитов крови пострадавших с гнойными осложнениями сочетанной травмы. У пострадавших с сепсисом можно предположить ограничение миграции моно-

Таблица 6

**Количество CD 18 $^{+}$  мононуклеарных клеток в крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Количество CD 18 $^{+}$ мононуклеарных ( $\times 10^9$ /л)	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	1,1 $\pm$ 0,26	1,9 $\pm$ 0,3
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	1,01 $\pm$ 0,18	0,93 $\pm$ 0,26
Третья группа (с сепсисом)	0,92 $\pm$ 0,24	1,4 $\pm$ 0,31
Здоровые взрослые	1,32 $\pm$ 0,21	

Таблица 7

**Количество мононуклеарных клеток HLA DR $^{+}$  в крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Количество мононуклеарных клеток HLA DR $^{+}$ ( $\times 10^9$ /л)	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	1,0 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,32* #
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	0,9 $\pm$ 0,18	1,0 $\pm$ 0,29
Третья группа (с сепсисом)	0,79 $\pm$ 0,2	1,37 $\pm$ 0,24
Здоровые взрослые	0,87 $\pm$ 0,21	

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с количеством HLA DR $^{+}$  клеток в крови здоровых людей. # –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем на 1-е сут после получения травмы.

цитов из костного мозга в условиях тканевой гипоксии и нарастающей органной недостаточности.

Важную роль в киллинге и элиминации инфекционных антигенов играет продукция моноцитами крови активных форм кислорода (АФК). Активированные бактериальными антигенами моноциты увеличивают продукцию АФК, усиливая бактерицидный потенциал крови и тканей. Длительное усиление кислородозависимой бактерицидности клеток, особенно при недостаточном антиоксидантном потенциале клеток крови и тканей, приводит к развитию оксидативного стресса. Как показали результаты исследования, уровень стимулированной зимозаном хемиллюминесценции моноцитов крови, отражающей продукцию АФК, повышается как на 1-е, так и на 5-е сут наблюдения у больных с гнойными осложнениями и сепсисом, в отличие от уровня ХЛ у пациентов без гнойных осложнений травматической болезни (табл. 8). Изменение этого показателя в сторону увеличения является убедительным свидетельством активности воспаления, вызванного бактериальными антигенами.

Таблица 8

**Индукцированная зимозаном хемиллюминесценция моноцитов крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Стимулированная хемиллюминесценция моноцитов (мВ)	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	5,5±1,2	5,9±1,4
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	16,2±4,1#	17,1±3,9#
Третья группа (с сепсисом)	19,2±4,5#	16,1±4,1#
Здоровые взрослые	9,8±1,6	

# –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем у пациентов из группы ТМТ без осложнений.

Активация стресс реализующей функции надпочечников при экстремальных воздействиях традиционно оценивается по изменению уровня кортизола в крови. Увеличение уровня кортизола в крови создает предпосылки для развития Т-лимфоцитопении, ограничения воспалительной активности клеток различных популяций, в том числе и продукции провоспалительных цитокинов.

Уровень кортизола в крови пострадавших первой группы находился в пределах нормальных значений как через 24 ч, так и через 5 дней после травмы. У всех пострадавших с гнойными осложнениями травматической болезни содержание кортизола в крови через сутки после инцидента было в 4–6 раз выше, чем у здоровых людей, и оставался повышенным до 5 сут (табл. 9).

**Содержание кортизола в сыворотке крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Концентрация кортизола (нмоль/л)	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	700±350	300±250
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	3050±500*#	1900±340*#
Третья группа (с сепсисом)	2200±460*	1200±350
Здоровые взрослые	460±250	

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем кортизола в крови здоровых людей. # –  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем кортизола в крови пострадавших первой группы.

Корреляции между содержанием кортизола в крови пострадавших через сутки после инцидента, уровнем воспалительных цитокинов, продукцией АФК моноцитами крови не выявлено.

Таким образом, моноциты крови сохраняют как регуляторные, так и эффекторные функции в периоде ранних проявлений ТБ, в том числе при наиболее тяжелой механической травме и раннем посттравматическом сепсисе. Следует отметить, что резерв активации моноцитов крови тем ниже, чем тяжелее травма и шок, что, очевидно, является одним из важных условий гнойных осложнений и сепсиса. Анализ динамики количества моноцитов крови пострадавших с различным течением ТБ позволяет сделать предположение о недостаточности моноцитопоза у пострадавших с посттравматическим сепсисом.

Полученные данные о сохраненном уровне продукции лимфоцитактивирующих факторов моноцитами крови пострадавших с сочетанной травмой позволили нам ожидать, по крайней, частичное восстановление пула циркулирующих Т-лимфоцитов. Однако мы наблюдали выраженное уменьшение количества зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) у пострадавших с гнойными осложнениями сочетанной травмы и в наибольшей степени – у больных посттравматическим сепсисом (табл. 10).

Таблица 10

**Количество Т-лимфоцитов в крови пострадавших с различным течением травматической болезни**

Группы пострадавших	Количество лимфоцитов (CD3+) ( $\times 10^9$ /л)	
	1-е сут	5-е сут
Первая группа (без осложнений)	0,8±0,14	1,2±0,21
Вторая группа (с гнойными осложнениями)	0,37±0,2*	0,8±0,18
Третья группа (с сепсисом)	0,66±0,12*	0,53±0,16*#
Здоровые взрослые	1,27±0,18	

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с количеством Т-лимфоцитов в крови здоровых людей. # –  $p < 0,05$  по сравнению с количеством Т-лимфоцитов в крови пострадавших первой группы.

Как было показано в предыдущих исследованиях, дефицит количества и функциональной активности Т-лимфоцитов является наиболее постоянной составляющей пост-травматической иммуносупрессии [1, 5, 23]. Дефицит клеток, экспрессирующих CD3-молекулы, обеспечивающие проведение сигнала активации внутрь клетки после распознавания антигена, презентруемого HLA-DR+ моноцитами и В-лимфоцитами, нарушает развитие полноценного иммунного ответа на антигены, в том числе бактериальной природы.

Как было показано выше (табл. 4), именно у пострадавших с посттравматическим сепсисом на 5-е сут после травмы наблюдалось усиление продукции лимфоцитактивирующих факторов моноцитами крови и увеличение доли HLA-DR+ клеток в пуле циркулирующих моноцитов. Очевидно, для данной группы пострадавших в наибольшей степени характерно угнетение реактивности Т-лимфоцитов, обусловленное супрессивным влиянием факторов патогенеза тяжелой механической травмы и шока.

Существует мнение, что Т-лимфоцитопения в крови, развивающаяся после тяжелой механической травмы, обусловлена гиперкортизолиемией и гиперантигенемией, индуцирующими апоптоз Т-лимфоцитов [9], усилением миграции лимфоцитов в ткани [1], а также дефицитом факторов лимфопоэза (растворимых пептидов тимуса, цитокинов-лимфопоэтинов: ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-15 и др.) [15, 21, 22, 23]. Очевидно, при тяжелой механической травме, сопровождающейся шоком, развитие Т-лимфоцитопении вызвано комплексом перечисленных факторов патогенеза тяжелой травмы и шока, а дефицит растворимых пептидов тимуса, как основных факторов лимфопоэза, может быть обусловлен негативным влиянием гипоксии, развивающейся в результате острой кровопотери, на функции тимического эпителия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тяжелая механическая травма, сопровождающаяся развитием шока, вызывает остро развивающиеся изменения функционирования различных органов и систем, в том числе иммунной и эндокринной. При наиболее тяжелых механических и циркуляторных (вторичных) повреждениях тканей формируется недостаточность функций органов и систем, или полиорганная недостаточность, определяющая тяжелое течение травматической болезни с развитием гнойных осложнений и сепсиса. Влияние гипоксии обуславливает и формирование нарушений функционирования системы кроветворения и иммуногенеза: костного мозга, вилочковой железы, органов периферической иммунной системы. Так, тяжесть состояния пострадавших, получивших сочетанную травму

с БШТ по шкале Г. И. Назаренко, превышающим 20, соответствовала наличию синдрома полиорганной недостаточности (уровень органной дисфункции по SOFA > 4 баллов). У больных этой группы наблюдали клинические проявления сепсиса и тяжелого сепсиса и лабораторные признаки вторичного иммунодефицита. Тем не менее у пострадавших этой группы наблюдалось усиление лимфоцитактивирующих свойств моноцитов и количества HLADR+ мононуклеаров в крови к 5-му дню наблюдения в сочетании с угнетением пролиферации моноцитов и лимфоцитов. При этом, вероятно, не происходит полноценного восприятия Т-лимфоцитами активирующего влияния моноцитов в условиях постгипоксической органной недостаточности и бактериальной антигенемии. Таким образом, пострадавшие с сочетанными травмами, которые сопровождаются развитием шока III степени, должны лечиться как пациенты с тяжелым сепсисом. В эту же группу должны входить пострадавшие с шоком II степени и выраженными нарушениями иммунной системы.

Для пострадавших с локализованными гнойными осложнениями, исходя из анализа результатов исследования, существенным фактором патогенеза гнойных осложнений является функциональная недостаточность моноцитов крови, очевидно предшествующая травме или вызванная терапией шока.

Течение травматической болезни у пострадавших с сочетанной травмой, не сопровождавшейся развитием гнойных осложнений, характеризуется как пролиферацией моноцитов, как и активацией их функций. При этом уровень хемилюминесценции, как реакции исключительно индуцибельной (например, бактериальными антигенами или воспалительными цитокинами), сохраняется в пределах нормальных значений, отражая состояние инфекционного благополучия.

Таким образом, основными факторами, определяющими развитие гнойных осложнений сочетанной травмы, является тяжесть травмы и шока и обусловленные дистрессом и гипоксией нарушения эндокринной системы, кроветворения и иммунитета.

## ВЫВОДЫ

1. Основными факторами, определяющими развитие гнойных осложнений сочетанных травм, является тяжесть травмы и шока, гиперкортизолиемия, расстройства гемопоэза и иммунитета.
2. Моноциты крови пострадавших сохраняют как регуляторные (усиление продукции ЛАФ), так и эффекторные функции даже при наиболее тяжелой механической травме и раннем посттравматическом сепсисе в периоде острой реакции на

травму, но резерв пролиферации и активации тем ниже, чем тяжелее травма и шок.

3. Иммунологическими критериями прогноза развития гнойных осложнений у пострадавших с сочетанной травмой являются Т-лимфоцитопения и моноцитопения.
4. Ранним прогностическим критерием гнойных осложнений и маркером бактериальной инвазии является усиление хемилюминесценции моноцитов крови, которое наблюдается у всех пострадавших с гнойными осложнениями и сепсисом.
5. Все пострадавшие с шоком III степени имеют абсолютный риск развития тяжелых гнойных осложнений и сепсиса, что предполагает проведение антисептической терапии с первых суток нахождения в стационаре. В эту группу должны входить и пострадавшие с шоком II степени, имеющие выраженные нарушения иммунитета в первые сутки после травмы.

### Литература

1. Александров В.Н., Пивоварова Л.П. Патогенез посттравматического иммунодефицита, подходы к его коррекции и профилактике // Актуальные вопросы клинической и теоретической медицины. Кишинёв: Штинца, 1991. С. 98–100.
2. Гуманенко Е.К. Сочетанные травмы с позиции объективной оценки тяжести травм. СПб., 2002. С. 58–63.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Издательство «ФОЛИАНТ», 2008. 552 с.
4. Корнева Е.А., Шанин С.Н., Рыбакина Е.Г. Интерлейкин-1 в реализации стресс-индуцированных изменений функций иммунной системы // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2000. Т. 86. № 3. С. 292–302.
5. Пивоварова Л.П., Арискина О.Б., Кладухина Н.А. и др. Иммунологические критерии инфекционных осложнений при тяжёлой механической травме // Сочетанная и множественная механическая травма. СПб., 1997. С. 127–141.
6. Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Козинцев И.А., Корнева Е.А. Активность защитных функций организма при стрессе и их коррекция препаратом деринат // Мед. иммунол. 2008. Т. 10. № 4–5. С. 431–438.
7. Селезнев С.А., Шапот Ю.Б., Багненко С.Ф. Травматическая болезнь (30 лет размышлений) // Скорая мед. помощь. 2003. Т. 4. № 4. С. 6–7.
8. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патологоанатомическая диагностика: практическое руководство / Под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда. М., 2006. 176 с.
9. Черных Е.Р., Норкин М.Н., Леплина О.Ю. и др. Апоптоз и анергия периферических Т-лимфоцитов при гнойно-септической патологии // Мед. иммунол. 1999. Т. 1. № 5. С. 45–51.
10. Ярилин А.А. Гомеостатические процессы в иммунной системе. Контроль численности лимфоцитов // Иммунология. 2004. № 5. С. 312–320.
11. Bauer I., Bauer M., Raddatz A. et al. Influence of gender on stimulated cytokine response in patients with severe sepsis // Anaesthesist. 2006. Vol. 31. P. 31–36.
12. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968. Vol. 21 (Suppl. 37). P. 77–89.
13. Dinarello C.A. Interleukin 1: a proinflammatory cytokine // Inflammation: Basic principles and clinical correlates, 3rd ed. / J.I. Gallin, R. Snyderman (eds.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. P. 443–461.
14. Faist E., Angele M.K., Zelder S. Immunoregulation in shock, trauma and sepsis. Immune response in the critically ill. Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg. 1999. P. 312–334.
15. Frangen T.M., Bogdanski D., Schinkel C. et al. Systemic IL-17 after severe injures // Shock. 2007. Vol. 27. P. 22–24.
16. Fox B.A., Lamb W.R., Roberts T.E. et al. Early cytokine response to multiple injury // Injury. 1993. Vol. 24 (6). P. 373–376.
17. Gautreaux M.D., Deitch E.A., Berg R.D. T Lymphocytes in Host Defense against Bacterial Translocation from the Gastrointestinal Tract // Infection and Immunity. 1994. Vol. 62. P. 2874–2884.
18. Hensler T., Hecker H., Heeg K. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery // Infect. Immunol. 1997. Vol. 65. № 6. P. 2283–2291.
19. Janeway C. Overview of host defense systems // Abstr. 2nd Intern. Congr. on The Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis. Mechanisms and Therapeutic Approaches: Munich. Klinikum Groshadern. March 6th – 9th, 1991. P. 1–12.
20. Katakami Y., Nakao Y., Koizumi T. et al. Regulation of tumor necrosis factor production by mouse peritoneal macrophages: the role of cellular cyclic AMP // Immunology. 1988. Vol. 64. P. 719–724.
21. Liener U.C., Knöferl M.W., Sträter J. et al. Induction of apoptosis following blunt chest trauma // Shock. 2003 (Dec). Vol. 20 (6). P. 511–516.
22. Lowry S.F. Cytokine mediators of immunity and inflammation // Arch. Surg. 1993. № 11. Vol. 128. P. 1235–1241.
23. Menges T., Engel J., Welters J. et al. Changes in blood lymphocyte populations after multiple trauma: association with posttraumatic complications // Crit. Care Med. 1999. Vol. 27. № 4. P. 733–740.
24. Newton S., Ding Y., Chung C. et al. Sepsis-Induced Changes in Macrophage Co-Stimulatory Molecule Expression CD86 as a Regulator of Anti-Inflammatory IL-10 Response // Surg. Infect. 2004. Vol. 5 (4). P. 375–383.



25. Qiao Z., Li Z., Li J. et al. Clinical study on bacterial translocation in severe trauma patients // Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Yi Xue. 2006. Vol. 18. № 1. P. 13–15.
26. Rose S., Marzi I. Abteilung für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie, Chirurgischen Universitätsklinik Hamburg/Saar // Zentralbl. Chir. 1996. Vol. 121 (11). P. 896–913.
27. Rosenwasser L.J., Dinarello C.A. Ability of human leukocytic pyrogen to enhance phytohemagglutinin induced murine thymocyte proliferation // Cell Immunol. 1981. Vol. 63. № 1. P. 134–142.
28. Rothe G., Kellerman W., Valet G. Flow-cytometric parameters on neutrophil function as early indicators of sepsis and trauma-related pulmonary or cardiovascular organ failure // J. Lab. Clin. Med. 1990. Vol. 115. № 1. P. 52–61.
29. Roumen R.M., Hendriks T., van der Ven-Jongekrijg J. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure // Ann. Surg. 1993. № 6. Vol. 218. P. 769–776.
30. Traccy K.J., Fong I., Hesse D.G. et al. Anti-TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteremia // Nature. 1987. Vol. 330. P. 662–665.
31. Trinchieri G., Kubin M., Bellone G. Cytokine cross-talk between phagocytic cells and lymphocytes: relevance for differentiation/activation of phagocytic cells and regulation of adaptive immunity // J. Cell. Biochem. 1993. Vol. 53. № 4. P. 277–279.
32. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts—rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill // Bratisl. Lek. Listy. 2001. Vol. 102. № 1. P. 5–14.