Иммунологические критерии прогнозирования формирования костного блока при оперативном лечении повреждений позвоночника

Бердюгина О. В. — д.б.н., ведущий научный сотрудник центральной научноисследовательской лаборатории ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург Бердюгин К.А. — к.м.н., доцент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург

Immunological criteria in prognosing of bone fusion after operation treatment of spine fractures

Berdugina O.V., Berdugin K.A.

Резюме

Целью работы стало определение роли иммунологического мониторинга в оценке состояния больных при повреждении позвоночника. Исследование крови проводили у 111 пациентов при двухэтапном оперативном лечении. Оценивали результаты общеклинического исследования крови, фенотипирования лимфоцитов, определения функциональнометаболической активности нейтрофилов, уровня циркулирующих иммунных комплексов, иммуноглобулинов, концентрации цитокинов, острофазовых протеинов до операции и в разные сроки до 6 месяцев включительно. При изучении трех групп больных (две их которых имели осложнения послеоперационного периода, одна — была контрольной) установили, что иммунологический мониторинг в лечении повреждений позвоночника может быть использован для прогнозирования осложнений послеоперационного периода — замедленной консолидации и нарушения формирования костного блока в позвоночном двигательном сегменте. Разработаны критерии прогнозирования осложнений для применения в работе специализированных травматологических, нейрохирургических отделений.

Ключевые слова: прогнозирование, переломы позвоночника, иммунология

Summary

The main aim - definition of role of immunological monitoring in evaluation of patients status after spine injury. Blood analyses were performed in 111 patients who underwent two-stage surgical treatment of spine injury – 1 stage – external fixation, 2 – anterior fusion. The assessment including general clinical blood test, phenotyping of lymphocytes, functional - metabolic activity neutrophiles, a level of circulating immune complexes, cytokine concentration, acute phase proteins before operation and in different postoperation terms. We studied 3 groups: 1 – norm, 2 – with delayed consolidation, 3 – incomplete fusion. We considered that immunologic monitoring in treatment of spine fractures can be used for forecasting complications before operation and in early postoperative period. Work out criteria of complications may be used in practice of traumatological, orthopedics and neurosurgery clinics. **Key words:** prognosing, spine fractures, immunology

Введение

Повышение эффективности оперативного лечения поврежде-иий позвоночника – одна из наиболее актуальных проблем современной травматологии [1]. Быстрое внедрение современных методов исследования, таких как компьютерная и магнито-резонансная томография существенно улучшило диагностику состояния костной ткани, позволило на ранних этапах дечения всесто-

ронне оценить тяжесть нанесенной травмы, вместе с тем прогнозирование послеоперационных осложнений и исхода лечения остается важной задачей данной технологии. Свон преимущества в решении данной проблемы показал иммунологический мониторинг, который ранее использовался в других областях медицины [2,3]. Иммунологический мониторинг является системой сбора, обработки, хранения и распространения информации, позволяющей оценивать состояние пациента в любой момент времени и обеспечивать прогноз динамики его развития. Рядом авторов была показана возможность использования имму-нологических лабораторных тестов для контроля за результатами лечения и развитием осложнений послеоперационного периода у больных с повреждениями опорно-двигательной системы [4,5]. Целью дан-

Ответственный за ведение переписки -Бердюгина О.В. 620131 Екатеринбург, ул. Татищева 77-310 тел.com 89049884382 e-mail:berolga73@rambler.ru

Группа	Количество больных	Возраст, лет	Ho.t	Сопутствую- шая патоло- гня
больные с повреждениями позво- ночника, из них: • нормальная консолидация;	111			
замедленная консолидация;незавершенный костный блок в	81 (73.0%)	30,5±1,1 (от 15 до 56)	м-51 (63,0%) ж-30 (37,0%)	49 (60,5%)
позвоночном двигательном сег- менте;	16 (14,4%)	37,3±3,2 (от 18 до 62)	м-12 (75,0%) ж-4 (25,0%)	11 (68,8%)
	14 (12,6%)	30,6±2,7 (от <u>1</u> 7 до 47)	м-7 (50,0%) ж-7 (50,0%)	8 (57,1%)

Таблица 1. Клиническая характеристика обследованных больных

ной работы стало определение роли иммунологического мониторинга в оценке состояния боль-ных при неосложненных повреждениях позвоночника и возможность использования иммунологических тестов для прогнозирования осложнений послеоперационного периода.

Материал и методы

Иммунологическое исследование крови прово-дили у 111 больных с неосложненными повреждениями грудного и поясничного отделов позвоночника. Всем больным производилась транспедикулярная фиксация поврежденного позвоночного двигательного сегмента с выполнением, в последующем, спондилодеза. Наиболее частой ло-кализацией перелома стал L1 – 34 пацвента и L2 – 28 пациентов. У всех пациентов переломы по классификации АО относились к группе А1-3. Основными механизмами травмы были падение с высоты (50%) и автодорожная травма (45%). Клиническая картина была однородна и представлена классическими симптомами.

Ha основании ретроспективного рентгенологического анализа, включая КТ и МРТ, все больные были разделены на три группы: с нормальной консолидацией, с замедленной консолидацией и с незавершенным формированием костного блока в позвоночном двигательном сегменте. Под нормальной консолидацией по данным рентгенологического, КТ и МРТ исследований понимается наличие признаков перестройки аутотрансплантата в зоне спондилодеза в срок 4,7 - 5 месяцев, в зависимости от того, на уровне одного или двух сегментов был произведен спондилодез; под замедленной консолидацией - срок, превышающий вышеуказанные показатели не более чем в 2 раза [6]. Не-завершенное формирование костного блока характеризовалось отсутствием перестройки костного аутотрансплантата и/или его лизированием. Клиническая характеристика обследованных больных представлена в таблице 1.

Лабораторные исследования проводили при поступлении больного в клинику и в динамике после обеих операций на 3, 10, сутки, 1 месяц, а также после переднего спондилодеза через 2, 5 и 6 месяцев. Протокол испытаний был одобрен этическим комитетом. Иммунный статус оценивали с использованием стандартного унифицированного комплекса тестов, рекомендованного Институтом Иммунологии ФМБА (г. Москва). Для опре-

деления количества и соотношения основных популяций лейкоцитов проводили общий анализ крови с вычислением основных лейкоцитарных индексов ЯИН (ядерный индекс нейтрофилов), ЛИИ (лейкоцитарный индекс интоксикации), ИЛ СОЭ (индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ) и ЛИА (лейкоцитарный индекс аллергизации). Иммунологический анализ включал: фенотипирование лимфоцитов с помощью ФИТЦ-меченых анти-CD3 и CD19-моноклональных антител («Сорбент», Москва) методом иммуноф-люоресцентной микроскопин; оценку функционально-метаболической активности нейтрофилов по концентрации лактоферрина (методом иммуноферментного анализа - ИФА), активности катионных белков (КБ) и мислопероксидазы (МП) цитохимическим методом; определение уровня цир-кулирующих иммунных комплексов (ЦИК), иммуноглобулинов (Ig) классов A, M, G методом простой радиальной иммунодиффузии, концентрации ци-токинов IL-1а, IL-1β, IL-1га, IL-8, TNF-а («Протеиновый контур», «Цитокин», Санкт-Петербург, «BioSourse International», США) методом ИФА. Дополнительно оценивали острофазовую реакцию по изменению концентрации нескольких белков - С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, гаптоглобина, церулоплазмина, что было обусловлено неоднозначностью их динамики. Статистические методы исследования выполнены с использованием компьютерной программы «STATISTICA» (ver. 6.0), они включали базовые статистики и теорию Байеса [7]. Для каждого из выделенных прогностических критериев установлено пороговое значение, норма, рассчитана диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, а также ожидаемая ценность использования.

Результаты и обсуждение

Прежде всего, рассматривали иммунологические реакции при нормальной консолидации повреждении позвоночника.

1. Особенности иммунологических реакций у больных при нормальной консолидации повреждений позвоночника. У больных этой группы до операции обнаруживались признаки наличия воспалительной реакции (увеличение СРБ, активности МП нейтрофилов, снижение ИЛ СОЭ и активности КБ). Относительное количество СD3+ и CD19+ клеток превышало верхнюю границу нормы [8], отмечалось увеличение уровня Ig A. Все эти из-

менения, по всей видимости, были реакцией на полученную травму.

В послеоперационном периоле нейтрофильный лейкоцитоз и реакция лейкопитарных индексов (ЛИП, ПЛ СОЭ) были выражены, что обусловлено большой тяжестью повреждения. Были выявлены некоторые признаки после-операционной иммунодепрессии: достоверное снижение числа лимфоцитов с появлением их активированных форм до 3% от общего числа этой популяции клеток, понижение уровня Ig M и ЦПК (р<0,05). Отмечалась активация фагоцитарных реакций. Воспалительная реакция, по данным острофазовых протейнов, развивалась стереотипным образом.

После спондилодеза лейкоцитарная реакция была сохранена, но менее выражена, отмечалось снижение числа лимфоцитов с изменением со-отношения CD3+ и CD19+ клеток, регистрировалось угнетение гуморального звена иммунной системы (снижение уровня IgM, IgG, ЦИК), повышалась функционально-метаболическая активность нейтрофилов.

Трансформации сопровождались изменением цитокинового профиля – более выраженные реакции были характерны для TNF-α. Кроме того, были выявлены признаки пролонгированной воспалительной реакции (по данным острофазовых белков), которая нами связывалась с большей травматичностью переднего спондилодеза.

Через 2 месяца после спондилодеза отмечалось увеличение относительного числа моноцитов (р<0.05) и встречались их вакуолизированные формы. Возрастало количество фагоцитов, при этом снижалась роль кислородзависимых реакций (МП) и повышалась кислороднезависимых (КБ). Как установлено, все изменения сопровождались повышением уровня цитокинов IL-1 β и TNF- α (р<0.05). К концу наблюдения большая часть изученных параметров нормализовалась.

2. Особенности иммунологических реакций у больных при замедленной консолидации повреждений позвоночника. На основании клинико-рентгенологического анализа было показано, что у больных двух других групп в разное время развивалось воспаление мягких тканей в области стержней аппарата внешней фиксации. Во избежание возникновения остео-миелита стержни аппарата, вокруг которых возникало воспаление, во всех случаях были удалены. Болевой синдром, сопровождавший воспаление, приводил к нарушению гемодинамики и, следовательно, трофики окружающих тканей. Воспалительная реакция местных тканей могла стать причиной нарушения костеобразования в виде замедления регенераторных процессов, за счет вовлечения в воспаление клеток и гуморальных факторов, принимающих активное участие в остеогенезе [9]. Иммунологические исследования, включенные в данную работу, были проведены до наступления воспаления мягких тканей и костных структур. Итак, у 16 человек, что составило 14,4% от всех больных с повреждениями позвоноч-ника, нагноение в области стержней аппарата было выявлено в среднем через 19±3 суток после остеосинтеза аппаратом. Это приводило к замедленной консолидации костной ткани в области повреждения, которая наступала через $5,5\pm0,5$ месяцев, что на 30% пожнее, чем при нормальной консолидации, которая регистрировалась через $4,2\pm0,3$ месяца (p<0.05).

Имунологические реакции при замедленной консолидации протекали следующим образом. До операции отмечалось снижение количества моноци-тов, фагоцитоз не был активирован. Уровень Ig M и Ig G, в сравнении с нор-мальной консолидацией, был достоверно снижен, а содержание ЦИК превышало нормальные значения. Кроме того, отмечалось повышение концентрации медленно реагирующих белков острой фазы (фибриногена, гаптоглобина), что указывало на наличие подострого воспалительного процесса.

В послеоперационном периоде на фоне воспалительной реакции (нейтрофильный лейкоцитоз, повышение ИЛ СОЭ) с низким уровнем быстро реагирующих белков (СРБ) и высоким уровнем медленно реагирующих белков (фибриноген, гаптоглобин), отмечалось чередование участия двух популяций иммунокомпетентных клеток (СОЗ+ и СО19+). Анти-телопродукция Ig A и Ig G была снижена, Ig M – повышена, уровень ЦИК сохранялся высоким, цитокиновый статус был без особенностей.

3. Особенности иммунологических реакций у больных с незавершенным формированием костного блока в позвоночном двигательном сегменте. У больных третьей группы (14 человек, что составило 12,6% от всех больных с повреждениями позвоночника) воспаление мягких тканей в области стержней аппарата внешней фиксации возникало в среднем через 58,2±5,7 суток после переднего спондилодеза. Во избежание возникновения остеомиелита стержни аппарата также были удалены. Сращения костной ткани в позвоночном сегменте в положенные сроки (4 – 5,5 месяцев) и далее (до 7 месяцев наблюдения) не наступило. В этой группе иммунологические реакции рассматривали подробнее.

До операции фиксировались реактивные изменения лейкопоэза: прежде всего, это нейтрофильная реакция, где значения выходили за пределы верхней границы нормы [8], а также увеличение ЛИИ, ИЛ СОЭ и снижение ЛИА. Было отмечено снижение относительного количества лимфоцитов и эозинофилов в сравнении с нормальной консолидацией позвоночника. Среди показателей, характеризующих гуморальные реакции, стоило отметить изме-нение уровня ЦИК превышавшего значения нормы (р<0,05) и снижение Ig M в сравнении с нормальной консолидацией костной ткани.

Послеоперационный период характеризовался угнетением иммунных реакций: отмечалось снижение числа фагоцитов, моноцитов и эозинофилов (р<0,05). Понижалась продукция иммуноглобулинов – Ig A на 3 сутки и Ig M через I месяц после операции. Менее выраженной была динамика острофазо-вых реакций (ЛИИ, IL-1β, СРБ, церулоплазмина).

Результаты исследования после переднего спондилодеза показали сле-дующее. Отмечался выраженный нейтрофильный лейкоцитоз с увеличением ЛИИ и ИЛ СОЭ. Признаки угнетения иммунной системы появлялись вновь. На 3 сутки после спондилодеза наблюдалось

80 №06(71) июнь 2010

Таблица 2. Критерии прогнозирования замедленной консолидации
в лечении повреждений позвоночника

Прогностический критерий	Осложненное течение	Нормальное течение	Чувствитель- ность, %	Специфич- ность, %	Ожилаемая цен-ность, %			
До операции								
Моноциты, 10 ⁹ /л	10,40	0.51-0,90	80,0	92.1	82,4			
Ig M, г/л	1 2.4	0,9-2,3	85.4	94,6	87.3			
СРБ, мг/л	1 5.0	6,0-17,0	79.2	81,2	83,2			
3 сутки								
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	† 6,9	4,0-6,8	92,3	80,1	93,1			
Нейтрофилы, 10°/л	† 6.5	2,5-6,4	75,2	93,1	78.3			
ник	† 0.07	0,02-0,06	88.4	90,7	89,8			
лии	† 2.4	0.5-2.3	91.4	94.6	96,4			
CD3+, %	1 45,0	46,0-70,0	90,4	92,3	91.7			
Лактоферрии, иг/мл	1 499	500-1500	81,3	88,4	86,2			
IL-1α, nr/мл	† 51.0	0-50,0	87.2	88,4	92,3			
IL-Ira, nr/мл	† 99.0	0-98.0	74,2	82.4	90,4			
IL-8, пг/мл	† 81,0	0-80,0	77,1	89,6	84,2			
TNF-а, пг/мл	† 51,0	0-50,0	92,0	90,9	94,1			
10 сутки								
ил соэ	† 1,9	1,1-1,8	81,3	92,7	94,1			
CD19+, %	↓ 4.0	5,0-12,0	77,3	81,4	79.9			
lg M, г/л	† 2.7	0,9-2,6	87.7	88,3	89,5			

Таблица 3. Критерии прогнозирования незавершенного формирования костного блока в позвоночном двигательном сегменте

Прогностический критерий	Осложиенное течение	Нормальное течение	Чувствитель- ность, %	Специфич- пость, %	Ожидаемая цен-ность, %			
До операции								
Нейтрофилы, 109/л	↑ 5,50	4,04-5,49	78.1	77,2	81,3			
Лимфоциты, %	24,0 и 1	25,0-32,0	71,4	78,2	73,2			
лии	1.19	0,74-1,18	90,1	78,2	92.2			
ил соэ	† 1,72	0,94-1,71	80.3	84,6	86,8			
ЛИА	↓ 0,90	0.91-1.12	85,7	87.7	86,7			
СРБ, мг/л	↓ 7.0	8,0-14,0	92,1	75.4	90,3			
Фибриноген, г/л	↑ 5.0	3,2-4,9	93,2	91,4	92.6			
Гаптоглобин, г/л	† 1,42	1,19-1,41	93,4	91,3	92,5			
	3 сутки							
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	10,12	0,13-0,17	72,5	80,1	81,7			
Моноциты, %	5,0 и ↓	6,0-8,0	83.3	76,3	83,8			
Ig А, г/л	↓ 1,52	1,53-2,33	81,4	79,6	80,7			
Фибриноген, г/л	↓ 3,41	3,42-5,01	92,3	91,4	92,7			
10 сутки								
СРБ, мг/л	↓ 4,0	5,0-22,0	86,7	74,5	88,6			
Церулоплазмин, г/л	↓ 0,45	0,46-0,61	92,3	71,4	74,3			

снижение CD19+ клеток. Начиная с 10 суток, постепенно снижалось количество CD3+ клеток и индекса CD3+/ CD19+. Увеличение числа фагоцитов на 3 сутки после спондилодеза сменялось последующим снижением их количества, при этом, очевидно компенсаторно, с 10 суток повышалась функционально-метаболическая активность клеток. Динамика воспалительной реакции была снижена. Ко 2 месяцу наблюдения после переднего спондилодеза, то есть к моменту обнаружения нагноения в области стержней аппарата, отмечалось снижение иммунологической реактивности в целом.

Важно отметить, что через месяц после спондилодеза прослеживалось увеличение числа эозинофилов, лимфоцитов и повышение ЛИА (все выше нормы) [8,10], что, возможно, отражало развитие аллергической реакции на использованные для металлоостеоинтеза конструкции, подобно как было описано для других типов конструкций (эндопротезов крупных суставов) [11].

Особенности динамики иммунологических показателей при оперативном лечении повреждений позвоночника позволили на основании теории Байеса выделить критерии прогнозирования замедленной консолидации (табл. 2) и незавершенного формирования костного блока в позвоночном двигательном сегменте (табл. 3) при остеосинтезе повреждений позвоночника аппаратом внешней фиксации и переднем спондилодезе. Для каждого из пред-

ложенных критериев установлено пороговое значение, диагностическая специфичность, диагностическая чувствительность и ожидаемая ценность. Их использование в клинической практике позволяет прогнозировать осложнения остеогенеза на разных этапах лечения (до операции, на 3 или 10 сутки после операции) и дает возможность корректировать тактику ведения больного. Для адекватного прогноза достаточно использования одного из предложенных тестов, проведение которого необходимо в выше указанные сроки, то есть до или после опера-ции. При использовании одновременно двух и более прогностических критериев точность прогноза возрастает на 3-5%. В распоряжении врача находятся исследования, относящиеся как к «рутинным методам», так и к узкоспециализированным (иммунологическим) методикам, что позволяет медицинским учреждениям любого уровня - от районных больниц до ведущих научных центров подобрать спектр наиболее информативных показателей для проведения мониторинга консолидации повреждений позвоночника.

Заключение

Иммунологический мониторинг позволяет оценцвать пла-стические процессы на уровне поврежденного позвоночного двигательного сегмента с учетом скорости возникновения индуцированного костного блока. Он может быть использован для прогнозирования осложнений послеоперационного периода - замедленной консолидации и нарушения формирования костного блока в позвоночном двигательном сегменте. Выбор тестов может осуществляться с учетом возможностей лабораторной службы, что позволяет использовать выделенные критерии в медицинских клиниках различного уровня (от крупных центров до небольших стационаров). Прогнозирование можно реализовать на разных сроках ведения больного: 3, 10 сутки, в том числе и на дооперационном этапе наблюдения, что позволяет проводить предоперационную коррекцию состояния с учетом выявленных отклонений и оптимизировать тактику лечения пациента.

Литература:

- Полищук Н.Е., Корж Н.А., Фищенко В.Я. Повреждения позвоночника и спинного мозга. Киев: Книга плюс; 2001.
- Пхакадзе Т.Я., Окропиридзе Г.Г., Вабищевич Н.К. Организация и проведение микробиологического мониторинга в травматологии и ортопедии. Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова 2005; 3: 77-83.
- Pfitzner T., Reiser M., Barth S. et al. Quantitative molecular monitoring of residual tumor cells in chronic lymphocytic leukemia. J.Ann.Hematol. 2002; 81: 258-266.
- Божкова С.А., Мамаева Е.Г., Еропкина Е.М. и соавт. Прогностическая ценность лабораторных показателей при эндопротезировании тазобедренного сустава. Клин.лабораторная диагностика 2000; 10: 30.
- Плигина Е.Г., Розинов В.М., Продеус А.П. и соавт. Иммунологические критерии прогнозирования развития гнойно-воспалительных осложнений у детей с множественными и сочетанными травмами опорнодвигательного аппарата. Вестн. травматологии и орто-

- педии им. Н.Н. Приорова 2000; 2: 49-55.
- Лавруков А.М., Томилов А.Б. Остеосинтез аппаратом внешней фиксации у больных с повреждениями и заболеваниями позвоночника. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН; 2002.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Примене-ние пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера; 2006.
- Лившиц В.М., Сидельникова В.И. Лабораторные тесты у здоровых людей (референтные пределы). М.: Триада; 2004.
- Шубич М.Г., Авдеева М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса. Арх.патологии, 1997; 59 (2): 3-8.
- Солдатов А.А., Соболев А.В., Берензон М.В. Расчетный индекс лейкоцитов в оценке аллергического процесса. Клин.лабораторная диагностика 1997; 11: 35-36.
- Milavec P.V., Orlic D., Marusic A. Sensitivity to metals in 40 patients with

82