

УДК 616-001.17-028.77:616.441-002+616:432:612.017

*Ю.Я. Крюк, В.Н. Ельский, Г.К. Кривобок, Л.П. Линчевская, Н.Н. Бондаренко, С.В. Пищулина,
Ю.И. Стрельченко, А.И. Фабер, А.Д. Есаулов*

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ И ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Реферат. Проблема термических поражений остается по-прежнему актуальной в связи с высокой частотой ожогового травматизма как в быту, так и на производстве, тяжестью ожоговой травмы, сложностью и продолжительностью лечения больных с ожогами. Иммунная и эндокринная система в значительной степени определяют течение раневого процесса при ожоговом повреждении. Результаты эксперимента свидетельствовали о вариабельности реакций со стороны иммунологической реактивности и гиповитарно-тиреоидной системы в ответ на ожоговую травму. Было отмечено, что у животных с осложненным течением раневого процесса ожоговое повреждение сопровождалось активацией гуморального компонента иммунитета и центрального звена гиповитарно-тиреоидной системы уже с первых суток повреждения. В то же время со стороны клеточного компонента иммунитета и периферического звена гиповитарно-тиреоидной системы наблюдалось угнетение, которое приобретало более стойкий характер в последующие сроки наблюдения.

Ключевые слова: ожоговая травма, гуморальный и клеточный иммунитет, тиреоидные гормоны.

Введение. Последние десятилетия активно продолжает разрабатываться проблема термической травмы, достигнуты значительные успехи в изучении ожогового повреждения и лечении больных [1, 4, 7, 14]. Структура ожогового травматизма за последние годы значительно изменилась в сторону утяжеления травмы и увеличения удельного веса больных с глубокими поражениями [3, 15]. В наибольшей мере это ощущается в промышленных регионах, в частности регион Донбасса на протяжении многих лет продолжает удерживать печальное первенство по уровню ожогового травматизма в Украине, странах СНГ и Европы [17, 18, 19, 20]. Кроме того, ожоговая травма сопровождается, как высокой летальностью, так и инвалидизацией пострадавших [15]. Несмотря на определенные успехи, достигнутые как в теоретических разработках, так и клинических методах лечения тяжело обожженных, проблема термических поражений сохраняет свою актуальность [2, 6, 10, 11, 12, 13]. По данным ВОЗ термические повреждения занимают второе место в структуре травм мирного времени и составляют 10–12 % всех видов травм [9, 16]. Учитывая существенное влияние, которое оказывают эн-

докринная и иммунная системы на течение раневого процесса, целью исследования было изучение особенностей иммунологической реактивности и гиповитарно-тиреоидной системы (ГТС) при ожоговом повреждении в эксперименте.

Материалы и методы. Моделирование термического ожога проводилось методом, запатентованному на кафедре патологической физиологии ДонНМУ им. М. Горького [5]. Исследование было проведено на 96 половозрелых крысах-самцах с соблюдением принципов Европейской комиссии по защите позвоночных животных (Страсбург, 1985). На 1-е и 7-е сутки после ожоговой травмы для определения уровней тиреоидных гормонов и показателей иммунного статуса производили забор крови из хвостовой вены животных. Лабораторные исследования проводили в отделе молекулярно-генетических исследований ЦНИЛ ДонНМУ им. М. Горького. Фенотипическую характеристику субпопуляций лимфоцитов выполняли с помощью моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Россия) в косвенном иммунофлуоресцентном тесте. В работе использовали следующие моноклональные антитела: СД3+ для определения Т-лимфоцитов; СД4+ для определения Т-хелперов; СД8+ для определения цитотоксических Т-лимфоцитов; СД16+ для определения натуральных киллеров; СД20+ для определения В-лимфоцитов. Гуморальное звено иммунитета оценивали по количеству сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), определяемых методом иммуноферментного анализа. Для исследования гиповитарно-тиреоидной системы в крови крыс были использованы наборы реактивов «Immunotech» (Франция) для определения уровней тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). В зависимости от течения ожогового повреждения животные были распределены на две группы: 1-я с благоприятным течением и быстрым заживлением ожоговой раны (52 животных), 2-я — с более длительным заживлением раневой поверхности в связи присоединением инфекции (44 животных). Контрольную груп-

пу составили 15 интактных животных. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программ MedStat и Statistica.

Результаты и обсуждение. Действие открытого огня на кожу на протяжении 3 секунд с расстояния 15 мм приводило к развитию ожога 2А-2Б степени, который проявлялся некрозом эпидермиса и верхних слоев дермы, резким отеком тканей, формированием пузырьков разного размера и десквамацией некротически измененного эпидермиса. Под воздействием пламени в месте повреждения развивался воспалительный процесс, который приводил к активации иммунной системы. Иммунологические исследования показали, что у животных обеих групп наблюдалась выраженная активация гуморального звена иммунитета. Так у животных 1-й группы отреагировали сывороточные IgA и IgM, уровень которых у животных 1-й группы повысился до 181 % и 172 % ($p < 0,05$), а во 2-й группе животных — до 196 % и 145 % ($p < 0,05$) соответственно, изменения уровня IgG были незначительными (Рис. 1 и Рис. 2). Превалирование уровня IgA могло быть связано с тем, что данный иммуноглобулин являясь секреторным, одним из первых включался в защиту организма при повреждении, обеспечивая своего рода иммунологический барьер при возможном проникновении патогенного агента через слизистые.

Показатели клеточного звена иммунитета в эти же сроки имели более выраженные изменения у животных 2-й группы: наблюдалось снижение CD4+ до 69 % ($p < 0,05$) и CD8+ до 73 % ($p < 0,05$). При этом содержание CD3+, а также CD19+ не имело столь значительных изменений. Общее количество Т-лимфоцитов, определяемое как CD3+ имело тенденцию к снижению на 13–16 % в 1-й и 2-й группах, тогда как количество В-лимфоцитов, которое оценивалось по маркеру CD19+, напротив, несколько превышало показатели контрольной группы.

На 7-е сутки после ожогового повреждения у животных 1-й группы наблюдалось некоторое снижение IgA со 181 % до 148 % ($p < 0,05$) и IgM со 172 % до 141 % ($p < 0,05$), при этом уровень IgG повысился до 125 % ($p < 0,05$) (рис. 1). Данные изменения происходили на фоне небольшого до 112 % повышения CD19+. Со стороны клеточного звена иммунитета в эти же сроки была отмечена тенденция к повышению CD8+ на 25 % по сравнению с 1-ми сутками после ожога. Уровень CD3+ и CD4+ оставался на уровне контрольных показателей. Вовлечение цитотоксических Т-лимфоцитов, маркером которых был CD8+, вероятно, обусловило благоприятное течение воспалительного процесса в зоне ожогового повреждения без осложнений и относительно быстрое заживление раны.

В эти же сроки у животных 2-й группы была отмечена несколько иная динамика

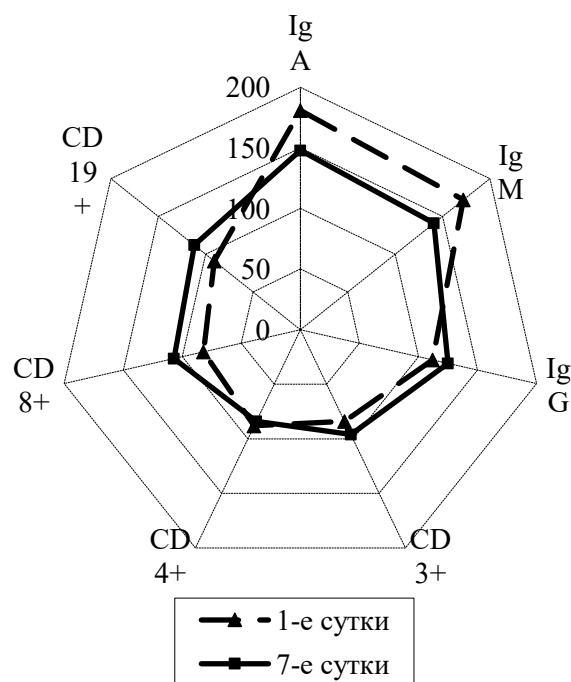


Рис. 1. Динамика показателей гуморального и клеточного звена иммунитета в крови экспериментальных животных 1-й группы на 1-е и 7-е сутки после термической травмы (показатели контрольной группы приняты за 100 %)

иммуноглобулинов. Уровень IgA снизился со 196 % до 146 %, в то время как содержание IgM повысилось до 201 % ($p < 0,05$), а IgG до 148 % ($p < 0,05$), соответственно. Со стороны клеточных реакций наблюдалось более выраженное снижение исследуемых маркеров по сравнению с 1-ми сутками и по сравнению с показателями 1-й группы: CD3+ составил 64 % ($p < 0,05$), CD4+ — 47 % ($p < 0,05$) и CD8+ — 49 % ($p < 0,05$) (Рис. 2). Вероятно, снижение показателей клеточного звена иммунитета и привело к осложненному течению ожогового раневого процесса у животных данной группы, при этом в качестве компенсаторной реакции наблюдалась более значительная активация гуморального компонента.

Анализ результатов исследования ГТС системы показал, что в 1-ой группе животных по сравнению с контролем в 1-е сутки после ожогового повреждения наблюдалось повышение уровня ТТГ до 176 % ($p < 0,05$) и Т4 — до 150 % ($p < 0,05$), при этом наблюдалось снижение Т3 до 72 % ($p < 0,05$) (рис. 3). У животных 2-й группы наблюдалась подобная динамика гормонов: уровень ТТГ повысился до 172 % ($p < 0,05$), а Т4 — до 139 % ($p < 0,05$), а содержание Т3 снизилось до 62 % ($p < 0,05$).

Принципиальные отличия в реакции периферического звена ГТС наблюдались у животных на 7-е сутки. Уровень ТТГ сохранялся повышенным у животных обеих групп, но если у животных 1-й группы он снизился на 41 % по сравнению с содержанием гормона на 1-е сутки термической травмы, то у животных 2-й группы, напротив, наблюдалось дальнейшее

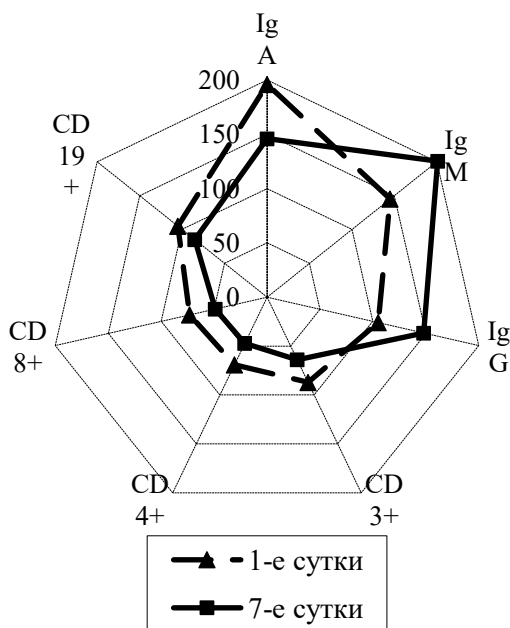


Рис. 2. Динамика показателей гуморального и клеточного звена иммунитета в крови экспериментальных животных 2-й группы на 1-е и 7-е сутки после термической травмы (показатели контрольной группы приняты за 100 %)

увеличение уровня гормона со 172 % до 195 % ($p < 0,05$). Тиреоидные гормоны также имели существенные отличия в динамике наблюдения в выделенных группах: у животных 1-й группы уровень Т4 имел тенденцию к нормализации и достиг контрольных значений, а у животных 2-й группы произошло резкое снижение содержания гормона практически в два раза со 139 % до 67 % ($p < 0,05$). Уровень Т3 у животных 1-й группы повысился до 85 %, а у животных 2-й группы продолжал снижаться и достиг 43 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными показателями.

Наблюдаемые изменения со стороны ГТС могут иметь следующее объяснение: ак-

тивация центрального звена обусловлена нейроэндокринной активацией в ответ на термическое повреждение, вследствие чего наблюдалась стимуляция щитовидной железы ТТГ и повышение секреции Т4 уже в первые сутки. В пользу этого заключения говорит и сходная динамика гормонов ТТГ и Т4 в обеих группах животных. Наблюдаемое некоторое снижение Т3 может быть результатом снижения конверсии Т4 в Т3 в периферических тканях вследствие ухудшения микроциркуляции или, более вероятно, снижения активности дейодиназ под воздействием глюкокортикоидов, уровень которых, как правило, существенно повышается при данном виде повреждения [14]. В настоящее время идентифицировано три типа этих ферментов, имеющих различную тканеспецифичность [8]. В тоже время современные данные в отношении действия глюкокортикоидов на активность дейодиназ противоречивы [8]. Наблюдаемое на 7-е сутки после ожога повышение ТТГ может быть уже следствием сниженного уровня Т3, который наблюдался у животных в это время. При этом у животных 1-й группы в ответ на стимуляцию ТТГ повышался уровень секреции Т4, в тоже время у животных 2-й группы было отмечено снижение не только Т3, но и Т4, что в свою очередь приводило к еще более выраженному увеличению ТТГ. Снижение ответа периферического звена ГТС у животных 2-й группы не только являлось свидетельством выраженных метаболических нарушений, но и в свою очередь усугубляло заживление раневой поверхности и приводило к развитию осложнений. Сведения о влиянии ГТС на иммунную систему противоречивы, тем не менее неоспорим является факт взаимодействия нейро-иммуно-эндокринной регуляции при различных

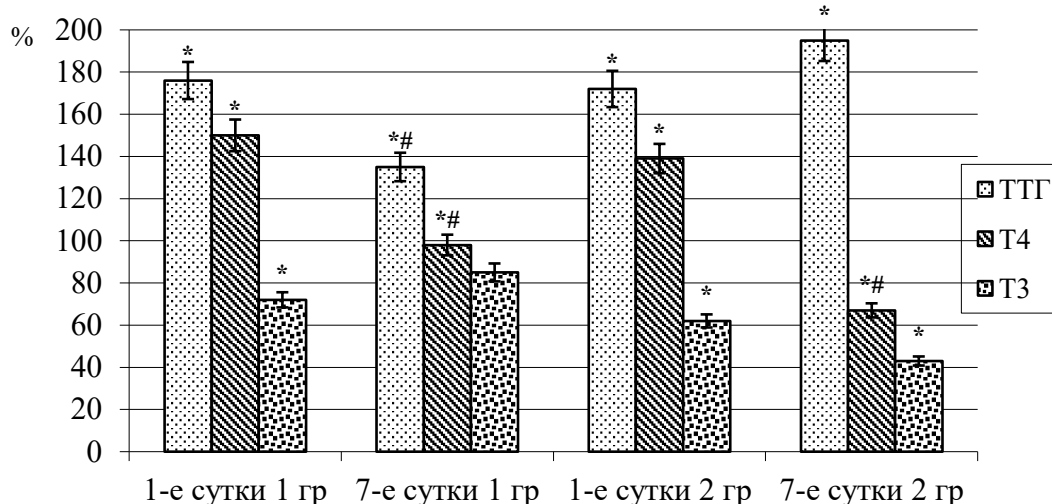


Рис. 3. Динамика показателей гипоталамико-тиреоидной системы в крови экспериментальных животных на 1-е и 7-е сутки после термической травмы (показатели контрольной группы приняты за 100 %); * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных; # — $p < 0,05$ по сравнению с 1-ми сутками наблюдения

патологических процессах в организме. В некоторых исследованиях показана активация В-лимфоцитов и повышение продукции иммуноглобулинов под воздействием Т4 [10]. Снижение уровня тиреоидных гормонов, учитывая их возможное влияние в том числе и на пролиферацию лимфоцитов, могло приводить к усугублению нарушений, проявляющихся снижением количества субпопуляций Т-лимфоцитов у животных 2-й группы.

Выводы. Полученные данные при дозированных ожогах открытым пламенем свидетельствуют об изменении иммунологической реактивности и развитии гипофункции периферического звена ГТС после ожогового повреждения, которая имеет существенное значение для течения раневого процесса. У животных с неосложнённым течением в течение недели наблюдается восстановление функции щитовидной железы и активация гуморального звена иммунитета, что благоприятно сказывается на уровне метаболических процессов и быстром заживлении раневой поверхности. У животных с осложненным течением наблюдается усугубление дисфункции ГТС и клеточного звена иммунитета, что может являться фактором, отягощающим течение раневого процесса.

Y.Y. Kruk, V.N. Yelskiy, G.K. Krivobok, L.P. Linchevskaya, N.N. Bondarenko, S.V. Pishchulina, Y.I. Strelchenko, A.I. Faber, A.D. Esaulov

THE FEATURES OF IMMUNOLOGICAL REACTIVITY AND PITUITARY-THYROID SYSTEM AT EXPERIMENTAL BURNS

Abstract. *The problem of thermal injury is actual in order to high frequency of burns in every day life and in manufactures, severity of burns, duration of treatment. Immunity and endocrine systems define course of burn injury. Our data of experiment concerning variable reaction of immunological reactivity and pituitary-thyroid system at burns. Animals with complicated duration of injury had activation of humoral part of immunity and central part of pituitary-thyroid axis at first day after burn. Suppression of cellular response of immunity and peripheral part of pituitary-thyroid system was marked in next time of observation.*

Key words: *burns, humoral and cellular immunity, thyroid hormones.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А.А. Актуальные вопросы организации и состояние медицинской помощи пострадавшим от ожогов в Российской Федерации / А.А. Алексеев, В.А. Лавров // Комбустииология. – 2008. – № 35. – С. 24-28.
2. Бурмистрова А.Л. Оценка бактерицидной активности и секреции цитокинов лейкоцитами периферической крови на ранней стадии развития ожоговой болезни / А.Л. Бурмистрова // Известия Самарского науч. центра Рос. акад. наук. – 2010. – Т. 12 (33), №1 (7). – С. 1722-1725.
3. Гусак В.К. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженного по данным лейкоцитограммы и био-

- химического мониторинга / В.К. Гусак, Э.Я. Фисталь, И.И. Сперанский И.И, В.К. Гринь // Клин. лаб. диаг. – 200. – № 10. – С. 36
4. Ельский В.Н. Выраженность и динамика воспалительной реакции ожоговой раны под влиянием поляризованного света / В.Н. Ельский, Е.Ф. Баринов, Г.К. Кривобок // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – Том 11, № 1. – 2010. – С. 126-132.
5. Єльський В.М. Спосіб моделювання дозованого термічного опіку: патент 52390 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01) / В.М. Єльський, Г.К. Кривобок, Ю.Я. Крюк, та ін., заявник і патентовласник Донецький національний медичний університет ім. М. Горького. – № 021001899; заявл. 22.02.10; опубл. 25.08.10, Бюл. № 16.
6. Луценко А.А. Производственный травматизм: роковые обстоятельства или субъективная закономерность? / А.А. Луценко // Зеркало недели. – 2005, № 14. – С. 8.
7. Маркелова Е.В. Иммуноterapia в комплексном лечении больных с тяжелой ожоговой травмой / Е.В. Маркелова // Вестн. Российской военно-медицинской академии. – 2008. – №2(22), прилож., Ч.П. – С.740-741
8. Надольник Л.И. Стресс и щитовидная железа / Л.И. Надольник // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, № 4. – С. 443-456.
9. Ожоги [Электронный ресурс] // Информационный бюллетень №365.ВОЗ – 2012 г.– Режим доступа URL: <http://www.who.int/bulletin/volumes/90/5/ru/>. (дата обращения 18.10.2016 г.)
10. Полетаева А.В. Влияние гормонов на иммунологическую реактивность / А. В. Полетаева, А. И. Леванюк, Е. В. Сергеева // Экология человека – 2009. – № 7. – С. 42-46.
11. Стрельченко Ю. И. Норковый рефлекс как показатель функциональной активности ЦНС при ожогах открытым пламенем / Стрельченко Ю. И., Третяк Л. А., Иващенко В. С. // Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини, стоматології та фармації : матеріали 72-ї Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Донецьк, 14–16 квітня. – Донецьк, 2010. – С. 42.
12. Угнивенко М.И. Уровни цитокинов в среде культивирования нейтрофилов ожоговых больных в зависимости от стадии развития сепсиса / М.И. Угнивенко // Мед. иммунология. – 2009. – Т.11, № 4–5. – С. 463.
13. Усов В.В. Оценка состояния иммунного статуса у тяжелообожженных / В.В. Усов, Т.Н. Обыденникова, А.Е. Тарасов, А.Н. Горшеев // Тихоокеан. мед. журн. – 2008. – №1. – С. 53-55.
14. Филиппова Ю.Ю. Лабораторные маркеры в качестве предикторов различных фаз развития и исхода сепсиса у ожоговых больных / Ю.Ю. Филиппова // Материалы II международной науч.-практ. конф. 15 декабря 2011 г. – Москва, 2011. – С. 227-229.
15. Фисталь Э.Я. Классификация, клиника, профилактика и лечение осложнений у обожженных / Э.Я. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной медицины — 2002. – Т. 3, №3. – С. 385-389.
16. Kravitz M. Immune consequences of burn injury // AACN Clin Issues Crit Care Nurs. – 2003. – Vol. 4, № 2. – P. 399-413.
17. Peck M. D. Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors / M. D Peck // Burns. – 2011. – 37, № 7. – P. 1087-1100.
18. Rodrick M.L. The effects of traumatic or burn injury on the humoral immune response // Sepsis. – 2009. – Vol. 3. – P. 235-238.
19. Shah A. Epidemiology and profile of pediatric burns in a large referral center / A. Shah, S. Suresh, R. Thomas [et al.] // Clin. Pediatr. (Phila). – 2011. – 50, № 5. – P. 391-395.
20. Yao Y. The epidemiology of civilian inpatients' burns in Chinese military hospitals, 2001–2007 / Y. Yao, Y. Liu, J. Zhou [et al.] // Burns. – 2011. – 37, № 6. – P. 1023-1032.