МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Д. А. Вологжанин, Ю. Ш. Халимов

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, Россия

METABOLIC DETERMINANTS OF IMMUNE REACTIVITY IN TRAUMATIC DISEASE

D. A. Vologzhanin, Yu. Sh. Khalimov

S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, Saint Petersburg, Russia

Резюме. В результате изучения динамики показателей нутритивного и иммунного статуса у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в первые 30 сут посттравматического периода выявлены взаимосвязи параметров обмена веществ и иммунной системы и показано преимущественное влияние ряда нутриентов на состояние различных звеньев иммунитета. Получены данные, указывающие на изменение потребности в иммунонутриентах в разные сроки от момента травмы. На основании анализа закономерностей динамики метаболических взаимосвязей иммунитета определены перспективные подходы к нутриционной иммунокоррекции при травматической болезни, заключающиеся в дифференцированном использовании отдельных нутриентов в различные сроки после травмы (9 рис., библи.: 9 ист.).

Ключевые слова: иммунитет, иммунная недостаточность, иммунное питание, нутриционная поддержка, травма.

Недостаточность питания является самой распространенной причиной иммунной недостаточности [1]. В ситуациях, связанных со значительным увеличением потребности организма в энергии и нутриентах (стресс, травма и др.), исходный нутриционный статус играет чрезвычайно важную роль, так как в значительной степени определяет сопротивляемость человека неблагоприятным факторам окружающей среды [2].

Одним из первых взаимосвязь иммунологической реактивности и состояния питания показал В. И. Иоффе. В 30-х гг. XX в. он ввел термин «общая иммунологическая реактивность», под которой подразумевалась потенциальная способность организма отвечать иммунной реакцией на всякое адекватное антигенное раздражение, и установил, что эта способность непосредственно зависит от нутритивного статуса человека [3]. Однако основоположником учения об иммунном питании считается Nevin Scrimshaw (1959), показавший взаимосвязь частоты инфекционных заболеваний и недостаточного питания [4].

Впервые результаты использования иммунного питания были опубликованы в 1992 г. J. M. Daly с соавт., обнаружившими достоверное снижение частоты инфекционных осложнений и продолжи-

Summary. As a result of the study of the dynamics of nutritional and immune status in patients with severe trauma in the first 30 days of the posttraumatic period, the interrelations between the parameters of metabolism and the immune system were revealed and the predominant influence of a number of nutrients on the state of the various type of immune response was revealed. Data were obtained indicating the change in the need for immunonutrients at different times from the moment of injury. Prospective approaches to nutritional immunocorrection in patients with trauma, consisting in the differential use of separate nutrients at different period after trauma, have been identified (9 figs, bibliography: 9 refs).

Keywords: immune insufficiency, immunity, immunonutrition, trauma, nutritional support.

тельности стационарного лечения у хирургических пациентов, получавших специальную диету, обогащенную аргинином, РНК и омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [5]. Дальнейшие исследования эффективности иммунного питания не всегда подтверждали наличие такого эффекта, но при этом констатировали существенно более легкое течение развивавшихся инфекций и более быстрое восстановление нарушенных показателей иммунного статуса [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

У 70 пострадавших мужского пола (средний возраст $38,1 \pm 3,0$ года) с тяжелой сочетанной травмой выполнено параллельное исследование нутритивного и иммунного статуса в течение 30 сут с момента получения травмы в динамике. Исследования проводились с интервалом 7 сут начиная с 3-го дня после травмы.

Тяжесть состояния пострадавших на момент поступления по шкале ВПХ-СП (Гуманенко Е. К. с соавт., 1999) составила $26,4 \pm 1,5$ балла, тяжесть повреждения, оцененная по шкале ВПХ-П, — $12,2 \pm 0,9$ балла.

Исследование нутритивного статуса включало определение антропометрических и лабораторных показателей. Наряду с определением основных биохимических параметров, характеризующих различные виды обмена, методом газожидкостной хроматографии проводилось определение относительного содержания в сыворотке крови свободных аминокислот в виде триметилсилильных производных и относительного содержания неэстерифицированных жирных кислот (ЖК) в виде метиловых эфиров. Исследование выполнялось на газожидкостном хроматографе «Кристалл-2000», снабженном капиллярной колонкой с нанесенной жидкой фазой SE-30.

Для определения селена использовался атомно-абсорбционный спектрометр «Shimadzu AA-6800» (Япония) с электротермической атомизацией, для определения цинка — атомно-абсорбционный спектрометр «AAS 3» (Германия) с пламенной атомизацией.

Содержание в лейкоцитах гликогена определялось с использованием ШИК-реакции (Шабдаш А. Л., 1947).

Для выявления субпопуляций лимфоцитов периферической крови были использованы моноклональные антитела различной специфичности (к антигенам CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95, HLA-DR). Цитометрический анализ лимфоцитов и моноцитов проводился на проточном цитофлуориметре «EPICS XL» (Coulter Corporation, USA). Данные анализировали с помощью программы «Coulter System II».

Определение цитокинов осуществлялось с использованием тест-систем, разработанных в Государственном научно-исследовательском институте особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург) и производимых фирмой «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Исследование цитокинов как в сыворотке, так и в супернатантах крови проводилось до и после стимуляции (для оценки спонтанной и индуцированной продукции).

Уровень общих иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови определялся по методу Manchini et al. (1965). Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определялся с применением полиэтиленгликоля с определением ЦИК различной величины.

Эффекторные свойства нейтрофилов оценивались по спонтанной и индуцированной форболмирилатацетатом адгезивной способности.

Способность нейтрофилов к завершению фагоцитоза изучали в тесте с дрожжами, определяя число поглощающих их клеток и фагоцитарный индекс.

В качестве практического инструмента для проведения вычислительных экспериментов применялся пакет прикладных программ STATISTICA 10 for WINDOWS, а для аналитической интерпретации результатов также графические модули пакета

Microsoft Excel. Для количественной критериальной оценки исследуемых показателей определялись среднее значение, ошибка среднего значения, процент идентичного показателя относительно нормы, непараметрические методы оценки значимости различий и методы визуализации с применением таблиц и графиков.

При оценке и выявлении закономерностей динамики параметров и комплексного сравнительного анализа системы показателей у исследуемых групп использовались методы множественного корреляционного, регрессионного и факторного анализа, а также непараметрический критерий оценки значимости отличий и процент идентичных показателей относительно нормы и исходных значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате корреляционного анализа были определены нутриенты, имевшие статистически значимую зависимость с коэффициентом корреляции $> 0,3$ с одним и более параметром клеточного иммунитета (рис. 1).

В результате исследования установлено, что к показателям белкового обмена, обладающим значимым влиянием на клеточный иммунитет при травматической болезни, могут быть отнесены альбумин и ряд аминокислот: лизин, аргинин, глутамин, цистеин. Из показателей липидного обмена преимущественное влияние на состояние клеточного иммунитета оказывали триглицериды, пальмитиновая и олеиновая ЖК. Достаточно сильные корреляционные связи с параметрами клеточного иммунитета показали ЖК, имеющие относительно короткую углеродную цепь и не относящиеся к эссенциальным, что позволяет сделать вывод об их преимущественной роли в виде энергетического субстрата. Аналогично можно объяснить и отрицательную корреляционную связь с содержанием гликогена в нейтрофилах.

Присутствие среди нутриентов, оказывающих влияние на состояние клеточного иммунитета, цинка было ожидаемым, поскольку воздействие этого микроэлемента на данное звено иммунитета хорошо известно [7].

Помимо установления факта влияния того или иного нутриента на комплекс иммунологических показателей представляло интерес определение степени этого влияния и его направленности. Для решения данной задачи был применен метод канонического корреляционного анализа, при котором использовались не абсолютные значения параметров, а их отклонения от средних контрольных значений.

При исследовании отношений между совокупностью вышеперечисленных показателей и

Рис. 1. Метаболические взаимосвязи клеточного иммунитета

параметрами клеточного иммунитета (относительное и абсолютное содержание $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, РБТЛ с ФГА, продукция IFN γ) была выявлена взаимосвязь с коэффициентом $r = 0,58$; $p = 0,0001$. Соотношение и значения коэффициентов для первой канонической переменной представлены на рис. 2.

Как видно на рисунке, наибольший отрицательный коэффициент принадлежит аминокислоте лизин. Несколько меньше значения коэффициентов гликогена и аргинина. Влияние цинка, олеиновой, пальмитиновой кислот и альбумина относительно слабое. Можно предположить, что стимуляция клеточного звена иммунитета сопровождалась повышенным потреблением этих веществ, а их недоста-

точное содержание могло лимитировать развитие иммунного процесса.

Наибольший положительный коэффициент был определен у глутамина, несколько меньше — у триглицеридов и цистеина. По всей видимости, увеличение содержания данных нутриентов в целом позитивно сказывалось на состоянии клеточного иммунитета.

Исследование динамики коэффициентов к канонической переменной в течение ближайших 30 сут посттравматического периода показало, что на 1-й нед наиболее выраженное влияние на изучаемую совокупность параметров клеточного иммунитета имели пальмитиновая кислота, содержание гликогена в лейкоцитах и аргинин (рис. 3). С развитием воспалительного ответа на 2-й нед после травмы значение этих нутриентов возрастало, наблюдалось усиление влияния глутамина. Таким образом, в течение первых 14 сут состояние параметров клеточного иммунитета зависело главным образом от уровня нутриентов, имеющих непосредственное отношение к процессам получения энергии. Исключение составлял аргинин, который, являясь эссенциальной аминокислотой, вероятно, лимитировал синтез белка, о чем свидетельствовало отрицательное значение его коэффициента.

Течение травматической болезни на 3-й нед характеризовалось снижением влияния внутриклеточного содержания гликогена, что, возможно, отражает закономерное истощение его запасов в лейкоцитах. Сохранялось влияние пальмитиновой кислоты и глутамина, но при этом возрастало значение эссенциальных аминокислот: цистеина и аргинина.

На 4-й нед посттравматического периода цистеин сохранял свое влияние на клеточный иммунитет, в то время как значение остальных нутриентов снижалось.

Рис. 2. Соотношение коэффициентов к первой канонической переменной группы показателей клеточного иммунитета

Рис. 3. Влияние отдельных нутриентов на состояние комплекса параметров клеточного иммунитета в динамике травматической болезни

Анализ метаболических взаимосвязей гуморального иммунитета показал более заметную роль ЖК (рис. 4). На фоне увеличения числа взаимосвязей с относительно короткоцепочечными C16:0-пальмитиновой, C18:0-стеариновой, C18:1-олеиновой кислотами обращало на себя внимание наличие корреляций с эссенциальными C18:2-линолевой и C18:3-линоленовой ЖК.

Также было отмечено значимое влияние метионина, содержание которого коррелировало с абсолютным количеством CD20⁺ лимфоцитов, и треонина, имевшего взаимосвязь с продукцией иммуноглобулинов.

Статистически значимые корреляционные взаимосвязи наблюдались у показателей гуморального иммунитета и содержания альбумина и глюкозы.

Канонический корреляционный анализ показал, что наиболее сильное влияние на состояние группы параметров гуморального звена иммунитета (относительное и абсолютное содержание CD20⁺ лимфоцитов, содержание IgA, IgM, IgG, IgE, продукция IL-4) оказывают: альбумин, треонин, метионин, глюкоза и ЖК (стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая) ($r = 0,59$; $p = 0,0001$). Степень и направленность их влияния представлены на рис. 5.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии существенной взаимосвязи состояния показателей гуморального иммунитета и уровня альбумина в сыворотке крови. Влияние других нутриентов оказалось менее выраженным, но обра-

ют на себя внимание отрицательные значения коэффициентов большинства ЖК, кроме линолевой. Возможно, данная ситуация является отражением иммуномодулирующих свойств ПНЖК.

Изучение влияния отдельных нутриентов на комплекс параметров гуморального ответа в разные периоды травматической болезни показало, что в течение 1-й нед посттравматического периода наибольшее влияние оказывала олеиновая кислота

Рис. 4. Метаболические взаимосвязи гуморального иммунитета

Рис. 5. Соотношение коэффициентов к первой канонической переменной группы показателей гуморального иммунитета

(рис. 6). Противоположная ситуация наблюдалась в отношении линоленовой кислоты и треонина. Позитивным иммунологическим сдвигам соответствовало низкое содержание этих нутриентов в сыворотке крови, что, по всей видимости, отражало их повышенное потребление.

Ко 2-й нед после травмы преимущественное влияние на гуморальный иммунитет начинала оказывать глюкоза, возрастало значение линолевой кислоты и

метионина. Положительный эффект оказывало снижение пальмитиновой кислоты и треонина.

Третья неделя посттравматического периода характеризовалась сохраняющимся положительным влиянием метионина и олеиновой кислоты и отрицательным — гипергликемией.

В дальнейшем на состоянии гуморального иммунитета позитивно отражалось увеличение содержания стеариновой кислоты при одновре-

Рис. 6. Влияние отдельных нутриентов на пролиферативную активность лимфоцитов в динамике травматической болезни

менном снижении (потреблении?) линоленовой и олеиновой ЖК.

Состояние нейтрофильного звена также в определенной степени было детерминировано метаболическими параметрами (рис. 7). Комплекс показателей, характеризующий состояние нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с травмой (относительное и абсолютное содержание нейтрофильных гранулоцитов, способность к адгезии, фагоцитарная активность), имел достаточно тесные взаимосвязи с метаболическими процессами. Канонический анализ показал достаточно сильную корреляционную связь между ними ($r = 0,58$; $p = 0,006$). Наибольшее влияние на содержание и функциональное состояние нейтрофилов имело содержание альбумина, преальбумина, треонина и линоленовой ЖК (рис. 8). Вместе с тем полученные данные не могут быть непосредственно экстраполированы на метаболизм гранулоцитов, так как внутриклеточное содержание большинства веществ, необходимых для функционирования клеток, определяется в процессе их костномозгового развития, а в зрелых клетках они только расходуются. Поэтому, обсуждая полученные результаты, мы можем дать оценку нутритивного статуса, который является фоном для последующего нейтрофилопоза. Тем не менее анализ степени влияния отдельных показателей на состояние нейтрофильного звена иммунитета в разные сроки посттравматического периода показал, что в течение первых недель посттравматического периода состояние этих клеток в большей степени коррелировало с показателями белкового обмена, а начиная с 3-й нед преимущественное влияние на него оказывало содержание ЖК (рис. 9).

Рис. 7. Метаболические взаимосвязи нейтрофильного звена иммунитета

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что метаболические основы функционирования различных звеньев иммунитета имеют определенные особенности. На интегральное состояние клеточного звена иммунитета в большей степени оказывают влияние показатели белкового и углеводного обмена. В раннем посттравматическом периоде это содержание гликогена и относительно

Рис. 8. Соотношение коэффициентов к первой канонической переменной, характеризующей состояние нейтрофильного звена иммунитета

Рис. 9. Влияние отдельных нутриентов на состояние показателей нейтрофильного звена иммунитета в динамике травматической болезни

коротких ЖК, а начиная со 2-й нед посттравматического периода ведущую роль играет состояние белкового обмена, в частности уровень аминокислот: глутамина, аргинина и цистеина.

Гуморальное звено иммунитета в большей степени связано с состоянием липидного обмена. Влияние полиненасыщенных ЖК на состояние этого звена иммунитета прослеживалось в течение всего периода наблюдения.

Метаболические взаимосвязи нейтрофильного звена иммунитета в равной степени объединяют параметры различных видов обмена, что, по всей видимости, является отражением неспецифичности и универсальности системы палеоиммунитета.

В связи с тем что в зависимости от периода патологического процесса метаболические основы оптимального функционирования иммунной системы различаются как по количеству, так и по качественному составу потребляемых нутриентов, нутриционная поддержка иммунной системы также должна осуществляться дифференцированно в зависимости от периода воспалительного ответа. Вопрос относительно характера и своевременности нутриционной поддержки, направленной на коррекцию состояния иммунитета при травме, является достаточно принципиальным. Иммунодепрессия раннего посттравматического периода может иметь защитное значение, связанное с предотвращением развития иммунного ответа на аутоантиге-

ны, в избытке образующиеся при повреждении собственных тканей [8]. Не исключено, что это является своеобразным способом «экономии» резервных возможностей иммунной системы на этапе отсутствия «ясности» в отношении задач, поставленных перед ней в связи с массивным повреждением тканей. В такой экстремальной ситуации функциональные процессы, протекающие в организме, отклоняются от детерминированных алгоритмов, взаимодействие их становится случайным и плохо поддается контролю и прогнозированию, а потребность различных систем организма в энергии и нутриентах значительно возрастает [9]. Можно предположить, что в данной ситуации стимуляция иммунной системы, осуществляемая как с помощью иммуномодуляторов, так и с использованием формул иммунного питания, может привести к неожиданным и нежелательным результатам.

Таким образом, методология нутриционной поддержки иммунной системы при травматической болезни должна основываться на учете как закономерностей метаболического ответа на травму, так и изменений иммунной системы, происходящих в посттравматическом периоде.

Согласно результатам, полученным в настоящем исследовании, все нутриенты, имеющие влияние на состояние иммунной реактивности, принципиально могут быть разделены на две группы. Первая из них характеризуется относительно постоянным влиянием на интенсивность воспали-

тельного ответа. Такими нутриентами оказались альбумин, преальбумин, глюкоза, стеариновая, олеиновая и линолевая ЖК. Состав данной группы позволяет предположить, что всех их объединяет преимущественное использование в качестве энергетических субстратов и, следовательно, поступление данных нутриентов в организм должно быть достаточным и постоянным на протяжении всего посттравматического периода.

Вторая группа нутриентов характеризуется высокой динамичностью своего влияния на иммунитет, что позволяет предполагать преимущественное участие таких веществ в метаболических процессах в качестве пластического материала,

а выявленная динамика отражает потребность в них в различные периоды после травмы. К таким нутриентам, согласно полученным данным, относятся глутамин, аргинин, цистеин, лейцин, треонин, лизин, арахидоновая и линоленовая кислоты, т. е. практически все вещества, классифицируемые в настоящее время как иммунонутриенты. Как показало исследование динамики уровней этих нутриентов, в большинстве своем они снижались начиная со 2-й нед после травмы, что указывает на резкое увеличение потребности в них в данный период. Следовательно, и целенаправленное назначение «иммунного» питания должно осуществляться в эти же сроки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Delafuente J. C. Nutrients and immune responses. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 1991; 17 (2): 203–12.
2. Tutelyan V. A., Popova T. S. New strategies in therapeutic nutrition. Moscow: Meditsina; 2002. 141. Russian (Тутельян В. А. Попова Т. С. Новые стратегии в лечебном питании. М.: Медицина; 2002. 141).
3. Ioffe V. I. Clinical and epidemiological immunology. Leningrad: Meditsina; 1968. 372. Russian (Иоффе В. И. Клиническая и эпидемиологическая иммунология. Л.: Медицина; 1968. 372).
4. Scrimshaw N. S., Taylor C. E., Gordon J. E. Interactions of nutrition and infection. *Am. J. Med. Sci.* 1959; 237 (3): 367–403.
5. Daly J. M., Lieberman M. D., Goldfine J., Shou J., Weintraub F., Rosato E. F., Lavin P. Enteral nutrition with supplemental arginine, RNA, and omega-3 fatty acids in patients after operation: immunologic, metabolic, and clinical outcome. *Surgery.* 1992; 112 (1): 56–67.
6. Braga M., Vignali A., Gianotti L., Cestari A., Profili M., Carlo V. D. Immune and nutritional effects of early enteral nutrition after major abdominal operations. *Eur. J. Surg.* 1996; 162 (2): 105–12.
7. Chandra R. K. Nutrition and immunology: from the clinic to cellular biology and back again. *Proc. Nutr. Soc.* 1999 Aug; 58 (3): 681–3.
8. Eryukhin I. A. The concept of the cytokine network of basic metabolism in substantiating the principle of “dialogue” in the diagnosis and treatment of severe combined trauma. *Clinical medicine and pathophysiology.* 1997; 1: 7–12. Russian (Ерюхин И. А. Концепция цитокиновой сети базисного метаболизма в обосновании принципа «диалога» при диагностике и лечении тяжелой сочетанной травмы. Клиническая медицина и патофизиология. 1997; 1: 7–12).
9. Eryukhin I. A. The concept of “functional profiles” in the methodology for predicting the aftereffect of an extreme state of the organism. *Clinical medicine and pathophysiology.* 1995; 2: 12–7. Russian (Ерюхин И. А. Концепция «функциональных профилей» в методологии прогнозирования последствий экстремального состояния организма. Клиническая медицина и патофизиология. 1995; 2: 12–7).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Вологжанин Дмитрий Александрович — докт. мед. наук, профессор кафедры военно-полевой терапии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, конт. тел.: +7(911)9136986; e-mail: volog@bk.ru

Халимов Юрий Шавкатович — докт. мед. наук, профессор, начальник кафедры военно-полевой терапии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Vologzhanin Dmitry A. — M. D., D. Sc. (Medicine), professor of the Military Field Therapy Department, S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044, cont. phone: +7(911)9136986; e-mail volog@bk.ru

Khalimov Yuriy Sh. — M. D., D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Military Field Therapy Department, S. M. Kirov Military Medical Academy the Russian Defense Ministry, 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russia, 194044