

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЕ

## НАРУШЕНИЕ ИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ ОСЛОЖНЕННОЙ СКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ДИНАМИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИЕЙ

УДК 615.844

**Базарный В.В.:** профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии, главный научный сотрудник ЦНИЛ, д.м.н.;

**Исайкин А.И.:** заведующий клиникой животных, к.м.н.;

**Косарева О.В.:** младший научный сотрудник ЦНИЛ;

**Власов А.А.:** ассистент кафедры физиотерапии, лечебной физкультуры и спортивной медицины, к.м.н.  
ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия», г. Екатеринбург, Россия

## VIOLATION OF IMMUNE MECHANISMS OF THE COMPLICATED SKELETAL INJURIES AND THEIR CORRECTION BY DYNAMIC ELECTRONEUROSTIMULATION

Bazarnyj VV; Isajkin AI; Kosareva OV; Vlasov AA..

### Введение

Тяжелая скелетная травма, как известно, сопровождается комплексом патофизиологических сдвигов, важнейшими из которых являются иммунные нарушения, в том числе включающие изменение продукции цитокинов [1, 2]. Учитывая важнейшую роль иммунной системы в регуляции репарации [3, 4, 5, 6], становятся понятными причины развития в ряде случаев посттравматических осложнений, прежде всего инфекционных, и замедление репаративных процессов. Накопленный опыт многолетних исследований показывает, что существуют методы лабораторного иммунологического мониторинга и иммунокоррекции указанных нарушений [7, 8], а появляющиеся новые лечебно-диагностические технологии открывают новые перспективы в лечении тяжелых и осложненных скелетных и сочетанных травм. В частности, известны иммуностимулирующие свойства ряда физических факторов, в том числе новой технологии восстановительного лечения – динамической электростимуляции (ДЭНС), иммуностимулирующие эффекты которой, преимущественно направленные на Т-клеточное звено, были показаны ранее [9, 10]. Цель работы – выявить новые механизмы иммунных нарушений при тяжелой скелетной травме и оценить эффективность иммунокорректирующего воздействия ДЭНС.

### Материалы и методы

Исследование проведено на 44 беспородных крысах, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животным выполняли закрытый перелом бедра в условиях легкого наркоза рометаром. Затем

вводили пирогенал (100 мг/100 г массы) с целью воспроизведения системного воспалительного ответа [11]. Данная модель по своим патофизиологическим механизмам и клинко-лабораторным показателям соответствовала известному в клинической практике осложненному течению скелетной травмы. Часть животных (основная группа, n=22) сразу после травмы подвергали воздействию ДЭНС в области кожи хвоста и зоны перелома аппаратом ДиаДЭНС (регистрационное свидетельство № ФС-2005/004 от 2005 г.) с частотой 7 Гц, мощностью 3 усл.ед., длительностью воздействия – 10 мин, на курс – 7 процедур. Контрольные животные не получали такой терапии. Состояние крыс контролировали по стандартным лабораторным показателям. Общеклинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе МЕК 6400 K Nihon Konden по стандартному протоколу. Уровень фибриногена и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) определяли в клоттинговых тестах с использованием реагентов «Технология-стандарт» и с регистрацией результатов на оптическом коагулометре «Solar» (Россия).

Для оценки иммунной реактивности определяли спонтанную и митоген-стимулированную продукцию цитокинов: фактора некроза опухоли альфа (ФНОα) и интерлейкина-4 (ИЛ-4) в культуре лимфоцитов периферической крови. Использованы тест-системы («Вектор-Бест», Россия).

Статистическая обработка результатов выполнялась на основе принципов вариационной статистики с

использованием непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова.

### Результаты и их обсуждение

Проведенное исследование позволило выявить у экспериментальных животных в разные сроки посттравматического периода ряд стереотипных лабораторных признаков (таблица 1), характерных для скелетной травмы: на 3 сутки после перелома отмечались нейтрофильный лейкоцитоз и активация системы гемостаза, о чем свидетельствовало нарастание уровня РФМК. Различий между основной и контрольной группой в данный срок не обнаружено. К 7 суткам интенсивность лейкоцитарной реакции снижалась, причем в основной группе число нейтрофильных лейкоцитов и показатели гемостаза возвращались к нормальным значениям до операции. При этом в контрольной группе сохранялся умеренный лейкоцитоз.

Учитывая многочисленные данные об иммунологических нарушениях при тяжелой травме, нам представлялся принципиальным вопрос об их молекулярных механизмах. Для решения данной задачи был использован метод продукции цитокинов в стимулированной культуре лимфоцитов на 7 сутки после травмы (таблица 2). В контрольной группе заметно повышалась митоген-стимулированная продукция ФНОα – важнейшего провоспалительного агента. Возможно, такая активация клеточного звена иммунной системы носит патологический характер и обуславливает тяжелое или осложненное течение посттравматического периода. Продукция ИЛ-4 в данной группе животных не менялась. Под влиянием ДЭНС активация синтеза ФНОα была менее выраженной, чем в контрольной группе, а продукция ИЛ-4 усиливалась.

Одним из интегральных показателей продукции цитокинов является индекс стимуляции, который был рассчитан по средним арифметическим значениям, приведенным в таблице 2. Для ФНОα он составил у

интактных животных в среднем 2,1; после травмы в контрольной группе – 5,5, а в основной – 1,4. Для ИЛ-4 эти индексы составили соответственно 3,3; 2,6 и 4,2. Характеризуя полученные данные можно заключить, что под влиянием ДЭНС в посттравматическом периоде нормализуется нарушенная продукция цитокинов и соотношение между уровнем ФНОα и ИЛ-4, отражающее состояние регуляторных популяций Т-лимфоцитов. Этим также объясняется более быстрое восстановление реакции крови после травмы.

Ранее нами было показано, что ДЭНС стимулирует посттравматическую репарацию костной ткани [9, 10]. На основании полученных данных можно полагать, что одним из механизмов лечебного действия данного физического фактора является иммуномодуляторный эффект. В то же время следует отметить тот факт, что соотношение ФНОα стимулированная продукция/ИЛ-4 стимулированная продукция у крыс основной группы снижается в 2 раза в сравнении с интактными животными, и в 4,9 раз – в сравнении с контрольной группой. Эти данные вполне согласуются с установленным ранее фактом, что «выключение» некоторых механизмов иммунорегуляции в эксперименте (дефицит гамма/дельта Т-клеток, нокаут гена RAG1<sup>-/-</sup>) приводит к более активному течению посттравматических репаративных процессов в кости и повышению ее биомеханической прочности [3].

### Заключение

Проведенное исследование позволяет заключить, что осложненная скелетная травма сопровождается гиперактивацией иммунной системы, проявляющейся в усиленной продукции провоспалительных цитокинов. Воздействие ДЭНС нормализует иммунные нарушения, и данный иммуотропный эффект вносит определенный вклад в оптимизацию восстановительных процессов в костной ткани.

**Таблица 1.** Гематологические показатели крыс при травме

Лабораторные параметры	Показатели до травмы	Контрольная группа		Основная группа	
		3 сут	7 сут	3 сут	7 сут
Лейкоциты 109/л	7,4±0,6	12,5±1,3*	8,2±0,3	11,7±2,9*	6,3±0,5
Нейтрофилы 109/л	1,2± 0,4	3,7± 1,1 *	2,6± 0,9*	2,8± 0,7*	1,3± 0,5**
Фибриноген г/л	2,5±0,5	3,5±0,7	4,3±0,6*	3,6±0,8	3,4±0,7
РФМК	4,2± 1,3	9,7± 2,5*	8,8± 3,2	6,9± 0,4*	6,3± 0,5

**Примечание:** \* – p < 0,05 в сравнении с показателем до травмы  
\*\* – p < 0,05 в сравнении с контрольной группой

**Таблица 2.** Продукция цитокинов посттравматическом периоде

Показатели	Интактные животные	Контрольная группа	Основная группа
ФНО спонтанная продукция	1,2±0,1	1,4±0,4	2,8±0,5* **
ФНО стимулированная продукция	2,5±0,4	7,7±3,4 *	2,9±0,6**
ИЛ-4 спонтанная продукция	0,3±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1
ИЛ-4 стимулированная продукция	1,0±0,3	1,3±0,5	2,4±0,5 *

**Примечание:** \* – p < 0,05 в сравнении с показателем до травмы  
\*\* – p < 0,05 в сравнении с контрольной группой

## ДиаДЭНС·ПКМ

АППАРАТ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКОЙ  
ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ (ДЭНС)



Портативный физиотерапевтический аппарат для лечения, реабилитации и профилактики заболеваний у взрослых и детей

- 13 специализированных программ для терапии наиболее часто встречающихся симптомов заболеваний
- Самостоятельный выбор параметров стимуляции для составления индивидуального рецепта процедуры
- Комплектуется выносными электродами-аппликаторами из современных токопроводящих материалов

## ДЭНС-аппликатор

КОМПЛЕКТ ВЫНОСНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ  
ДЛЯ АППАРАТА ДИАДЭНС-ПКМ



Применяется для воздействия на зоны большой площади

- Уменьшение трудоемкости процедур
- Комфортное воздействие на области спины и шеи, суставы
- Максимальная конгруэнтность любому участку тела

## ДЭНАС-РЕФЛЕКСО

ВЫНОСНОЙ ЭЛЕКТРОД  
ДЛЯ АППАРАТА ДИАДЭНС-ПКМ



Применяется для воздействия на рефлексогенные зоны стопы

- Ортопедические заболевания стопы
- Артрозо-артриты нижних конечностей и последствия травм
- Хроническая венозная недостаточность и диабетическая ангиопатия

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Reikeras O. Immune depression in musculoskeletal trauma// *Inflamm Res.* – 2010. – Vol.59, N 6. – P.409–414.
2. Schmidt-Bleek K., Schell H., Schulz N., Hoff P., Perka C., Buttgerit F., Volk H.D., Lienau J., Duda G.N. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade// *Cell Tissue Res.* – 2012. – Vol. 347, N 3. – P. 567–573.
3. Colburn N.T, Zaal K.J., Wang F., Tuan R.S. A role for gamma/delta T cells in a mouse model of fracture healing.// *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol.60, N 6.– P. 1694–1703.
4. Mantovani A., Biswas S.K., Galdiero M.R., Galdiero M.R., Sica A., Locati M.. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling// *J Pathol.* – 2013. – Vol. 229, N 2. – P.176–85.
5. Schett G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone// *Eur. J. Clin. Investigat.* – 2011. – Vol. 41. – P. 1361–1366. ФНО – активатор резорбции.
6. Toben D., Schroeder I., El Khassawna T., Mehta M., Hoffmann J.E., Frisch J.T., Schell H., Lienau J., Serra A., Radbruch A., Duda G.N. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system// *J Bone Miner Res.* – 2011. – Vol. 26. – P. 113–124.
7. Базарный В.В. Регуляция дистракционного остеогенеза иммуноактивными пептидами// *Клеточные и нанотехнологии в биологии и медицине. Материалы Всерос. научно-практич. конф.* – Курган, 2007. – С. 16–17.
8. Базарный В.В., Береснева О.Ю., Валамина И.Е., Исайкин А.И., Киселев Н.С., Крохина Н.Б., Мельникова Т.М., Самойлов Д.С., Селянина О.Н., Тихонина Е.А., Щеколдин П.И. Экспериментальное обоснование иммуноориентированных технологий для коррекции восстановительных процессов// *Медицинский вестник Башкортостана.* – 2009. – № 2. – С. 118–121.
9. Базарный В.В., Исайкин А.И., Крохина Н.Б., Береснева О.Ю., Власов А.А., Щеколдин П.И. Клеточные механизмы реализации эффектов физических факторов на ремоделирование костной ткани// *Вестник травматологии и ортопедии им. В.Д.Чаклина.* – 2010. – № 2. – С. 18–20.
10. Исайкин А.И., Щеколдин П.И., Валамина И.Е., Власов А.А., Базарный В.В. Иммуные механизмы стимуляции репаративных процессов в коже при воздействии физических факторов// *Вестн.восст.медицины.* – 2011. – №4. – С. 51–54.
11. Kruzel M.L., Actor J.K., Radak Z., Vacsı A., Saavedra-Molina A., Boldogh I. Lactoferrin decreases LPS-induced mitochondrial dysfunction in cultured cells and in animal endotoxemia model// *Innate Immun.* 2010. – Vol. 16, N 2. – P. 67–79.

## РЕЗЮМЕ

В исследовании показано, что при экспериментальной осложненной травме у крыс нарушается продукция цитокинов – ФНОα и ИЛ-4. Воздействие динамической электронеуростимуляции восстанавливает продукцию цитокинов и оптимизирует течение посттравматических восстановительных процессов, в том числе и в костной ткани.

**Ключевые слова:** динамическая электронеуростимуляция, травма, цитокины.

## ABSTRACT

The study shows that the experimental complicated injury in rats impaired production of cytokines - TNF and IL-4. The impact of dynamic electroneurostimulation leads to normalization of cytokines production during the regenerative processes in the bone tissue.

**Keywords:** transcutaneous electroneurostimulation, trauma, cytokines.

## Контакты:

**Базарный В.В.** E-mail vlad-bazarny@yandex.ru

**Исайкин А.И.** E-mail laboratoria.lab@yandex.ru

**Косарева О.В.** E-mail laboratoria.lab@yandex.ru