

© Д. Ш. Саъдулаев, П. А. Дубикайтис, М. Е. Малышев, 2016
УДК 616-001-06:616-001.36-06:616.152.21-08-06:612.017.1

Д. Ш. Саъдулаев, П. А. Дубикайтис, М. Е. Малышев

ВЛИЯНИЕ СУБСТРАТНОГО АНТИГИПОКСАНТА НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПОСТРАДАВШИХ С ШОКОГЕННОЙ ТРАВМОЙ

ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе»
(дир. — В. Е. Парфёнов)

Ключевые слова: скорая медицинская помощь, сочетанная травма, антигипоксанта

Введение. Тяжелая механическая травма, сопровождающаяся развитием шока, является основной причиной смерти среди лиц работоспособного возраста (20–40 лет). В условиях мегаполиса транспортные и производственные аварии в 50–60% случаев сопровождаются механическими сочетанными и множественными повреждениями. За последние годы смертность от дорожно-транспортных происшествий (ДТП) в России не имеет тенденции к снижению, а число погибших достигает 28 тыс. человек в год [5]. Летальность при шокогенной травме достигает 40% [6], и в зависимости от тяжести шока летальные исходы преобладают во время шока или в постшоковом периоде. Основными причинами летальных исходов в постшоковом периоде являются тяжелые гнойные осложнения, в том числе сепсис, и развитие полиорганной недостаточности (ПОН). Инфекционные осложнения (ИО) тяжелых травм развиваются, в среднем, у 50–70% пострадавших, а их частота определяется тяжестью повреждений и шока, степенью расстройств иммунитета [6].

Развитие иммуносупрессии обусловлено такими системными процессами, как гипоксия, гипоперфузия, реперфузия, метаболические нарушения, оксидативный стресс, а при наиболее тяжелой травме и множественной

недостаточностью органов и тканей, что показано в исследованиях [5]. Одним из компонентов комплексного лечения постгипоксических и реперфузионных повреждений клеток является применение антигипоксантов [2, 3]. Применение антигипоксантов в раннем периоде травматической болезни является одним из перспективных способов снижения уровня воздействия факторов травмы на иммунную систему (гипоксии, оксидативного стресса).

Практическое использование в качестве антигипоксантов находят препараты, поддерживающие при гипоксии активность сукцинатаксидазного звена. Это флавинадениндинуклеотид (FAD)-зависимое звено цикла Кребса, позднее угнетающееся при гипоксии по сравнению с никотинадениндинуклеотид (NAD) -зависимыми оксидазами, может определенное время поддерживать энергопродукцию в клетке при условии наличия в митохондриях субстрата окисления в данном звене — сукцината (янтарной кислоты). В последние годы установлено, что янтарная кислота реализует свои эффекты не только как интермедиант различных биохимических циклов, но и как лиганд орфанных рецепторов (SUCNR1, GPR91), расположенных на цитоплазматической мембране клеток и сопряженных с G-белками (G_i/G_o и G_q). Эти рецепторы обнаружены во многих тканях, в первую очередь в почках (эпителий проксимальных канальцев, клетки юкстагломерулярного аппарата), а также

Сведения об авторах:

Саъдулаев Давлатёр Шарипович (e-mail: Sdavlatyor67@mail.ru), Дубикайтис Пётр Александрович (e-mail: Infter@mail.ru), Малышев Михаил Евгеньевич (e-mail: malyshev1972@yandex.ru), Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, 192242, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, 3

в печени, селезенке, сосудах. Активация этих рецепторов сукцинатом, присутствующем в сосудистом русле, увеличивает реабсорбцию фосфата и глюкозы, стимулирует глюконеогенез, повышает артериальное давление (через не прямое увеличение образования ренина) [1].

Комбинированным антигипоксическим свойством обладают реамберин, цитофлавин, ремаксол — созданные на основе янтарной кислоты и препарат «Цитофлавин» (янтарная кислота 1000 мг+никотинамид 100 мг+рибофлавина мононуклеотид 20 мг+инозин 200 мг). Основное антигипоксическое действие янтарной кислоты в данной рецептуре дополняется рибофлавином, способным за счет своих коферментных свойств увеличивать активность сукцинатдегидрогеназы и обладающим непрямым антиоксидантным свойством (за счет восстановления окисленного глутатиона). Предполагается, что входящий в состав никотинамид активирует NAD-зависимые ферментные системы, однако этот эффект менее выражен, чем у NAD. За счет инозина достигается увеличение содержания общего пула пуриновых нуклеотидов, необходимых не только для ресинтеза макроэргов — аденозинтрифосфат (АТФ) и гуанозинтрифосфат (ГТФ), но и вторичных мессенджеров — циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), а также нуклеиновых кислот. Определенную роль может играть способность инозина несколько подавлять активность ксантиноксидазы, уменьшая, тем самым, продукцию высокоактивных форм и соединений кислорода. Однако по сравнению с другими компонентами препарата эффекты инозина отсрочены во времени [2].

Основное применение цитофлавина нашел при гипоксических и ишемических повреждениях центральной нервной системы (ЦНС) (ишемический инсульт, токсическая, гипоксическая и дисциркуляторная энцефалопатия), а также в терапии различных патологических состояний, в том числе в комплексном лечении больных, находящихся в критическом состоянии. Так, применение препарата обеспечивает снижение летальности у пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения до 4,8–9,6% против 11,7–17,1% у больных, не получавших препарат.

Цитофлавин обладает антигипоксическим свойством, давая положительный эффект на процессы энергообразования в клетке, уменьшает продукцию свободных радикалов и восстанавливает активность ферментов антиоксидантной защиты. Препарат активизирует церебральный кровоток, стимулирует метаболи-

ческие процессы в центральной нервной системе. Имеются сведения о положительном влиянии препарата на иммунную систему.

Цель исследования — изучить особенности иммунной реактивности у пострадавших с сочетанной травмой и влияние применения цитофлавина на течение раннего периода травматической болезни.

Материал и методы. Обследованы 79 пострадавших с сочетанной травмой (СТ), сопровождавшейся шоком II и III степени тяжести, поступивших в противошоковое отделение ГБУ СПбНИИСП им. И.И.Джанелидзе (табл. 1). Все пострадавшие были разделены на 2 группы: 1-я группа (основная) — пациенты с введением антигипоксантов (39 человек), которые на фоне базисной терапии получали цитофлавин («ООО НТФФ ПОЛИСАН», Санкт-Петербург), и 2-я группа (контрольная) — пациенты без применения антигипоксантов (40 человек). Тяжесть травмы оценивали по величине ISS (Injury Severity Score) и шкале Г.И.Назаренко [4, 6]. Развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), сепсиса и тяжелого сепсиса определяли по наличию признаков, представленных в рекомендациях Калужской согласительной конференции (2004 г.). Тяжесть нарушений функций органов и систем, связанных с сепсисом, оценивали по шкале Sepsis-related Organ Failure (SOFA) (1994), принятой Европейским Обществом интенсивной терапии.

Среди пациентов преобладали мужчины. В основной группе мужчин было 27 (69,2%), в контрольной группе — 28 (70%). Как видно из табл. 1, группы пациентов до лечения по ряду основных показателей (возраст, пол, время поступления после травмы, показатели тяжести повреждений) были сопоставимы ($p > 0,05$) (рис. 1).

Всем пациентам основной группы введение субстратного антигипоксанта (цитофлавина) начинали в противошоковой операционной после стабилизации витальных функций (в среднем, через 1–2 ч с момента поступления) и далее через 12 и 24 ч с момента поступления.

До начала введения субстратного антигипоксанта (цитофлавина) пациенты получали стандартный комплекс интенсивного лечения. Далее внутривенно капельно вводили 10 мл препарата «Цитофлавин» в разведении на 200 мл 10% раствора глюкозы со скоростью 7 мл/мин. В дальнейшем

Таблица 1

Характеристика групп пострадавших с сочетанной травмой (M±m)

Параметр	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
Возраст, лет	38,9±2,1	38,8±0,9
Время поступления после травмы, мин	61,7±3,7	65,7±6,4
Тяжесть травмы по ISS, баллы	18,9±0,9	18,0±0,5
Прогноз по Ю.Н.Цибину, ч	8,4±1,3	9,3±0,5
Прогноз по Г.И.Назаренко, баллы	19,0±1,1	18,1±1,6

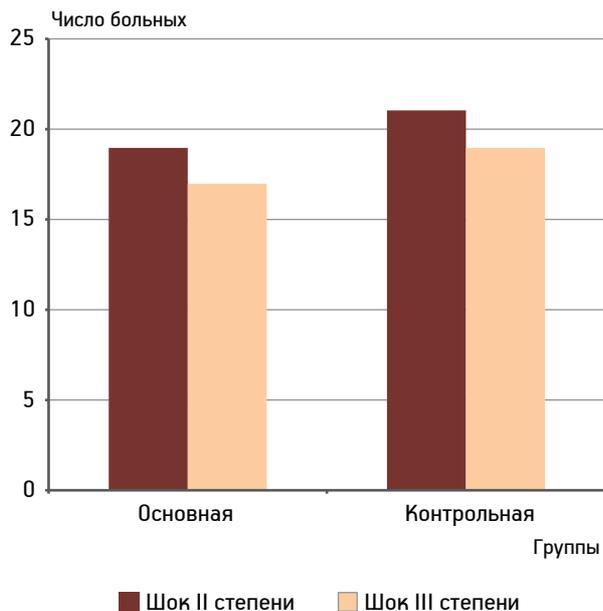


Рис. 1. Распределение пострадавших по степеням тяжести в группах

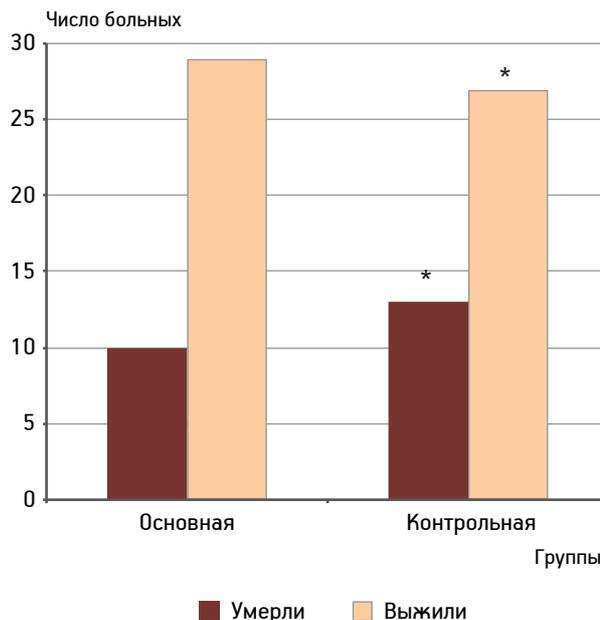


Рис. 2. Выживаемость в группах пострадавших.
* $p < 0,05$ между группами исследования

продолжали выполнение общепринятой терапии, корректируя схему лечения в зависимости от состояния больного.

Исследование крови у пострадавших проводили при поступлении в противошоковое отделение, через 12 и 24 ч после травмы.

Гематологическое исследование выполняли на автоматическом анализаторе КХ-21 («Sismex»). Определяли процентное содержание моноцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови. Исследование содержания CD14⁺-моноцитов, HLA-DR⁺-моноклеаров и Defensin-положительных нейтрофильных гранулоцитов крови проводили с помощью иммуноцитохимического метода (диагностические моноклональные антитела «Novocastra», Великобритания). Определение содержания секреторного иммуноглобулина А (sIgA) проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) («Вектор-Бест», Новосибирск). Содержание кортизола в сыворотке крови определяли методом ИФА («Алкор Био», Санкт-Петербург).

Статистическая обработка данных проведена с помощью прикладных программ MS Excell 7.0. и Statistica 6.0. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У всех пострадавших основной группы ($n=39$) на 3–5-е сутки после травмы диагностировали развитие сепсиса. У 12 (30,8%) пострадавших был диагностирован тяжёлый сепсис, умерли 10 пострадавших, летальность в группе составила 25,6%.

У всех пострадавших контрольной группы в течение 12 ч после получения травмы наблюдали признаки ССВО. У 22 пострадавших контрольной группы (55%) на 3–5-е сутки после травмы диагностировали развитие сепсиса. У 18 (45%) — были диагностированы тяжёлый сепсис, посттравма-

тическая пневмония, гнойный трахеобронхит, острая язва желудка, желудочно-кишечное кровотечение и посттравматическая анемия. На 3–10-й день умерли 13 пациентов контрольной группы — летальность 32,5%. В основной группе выживаемость — достоверно выше ($p < 0,05$) (рис. 2).

Длительность лечения пациентов основной группы составила $(43,4 \pm 3,1)$ дня, у пациентов контрольной группы — $(48,4 \pm 2,1)$ дня. Несмотря на некоторую разность средних значений, мы не получили достоверных различий ($p > 0,05$).

У всех пострадавших наблюдали повышенное содержание лейкоцитов по сравнению с нормой на протяжении всего периода наблюдения (табл. 2).

При анализе содержания в крови количества моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов мы не обнаружили достоверных различий между группами. Однако у пациентов обеих групп за все время исследования в крови наблюдалась лимфоцитопения (табл. 3). При этом у пациентов основной группы снижение количества лимфоцитов наблюдалось и через 1 сут, тогда как в контрольной группе через 24 ч число лимфоцитов восстанавливалось до значений нормы.

По данным литературы [1], антигипоксанты не влияют на содержание лимфоцитов. Более глубокая степень снижения лимфоцитов в основной группе, возможно, свидетельствует о более тяжёлом течении травматической болезни.

Необходимым условием развития реакций клеточного и гуморального иммунитета являются

Таблица 2

Содержание лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) в крови у пострадавших ($M \pm m$)

Показатель по дням	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
При поступлении	14,9 \pm 1,6*	13,2 \pm 0,6*
Через 12 ч	14,1 \pm 0,5*	13,9 \pm 0,4*
1-е сутки	13,6 \pm 2,0*	12,8 \pm 0,5*
Норма	6,0 \pm 1,2	

* $p < 0,05$ по сравнению с нормой.

непосредственный клеточный контакт и презентация бактериальных антигенов Т-лимфоцитам через взаимодействие экспрессируемых преимущественно мононуклеарными клетками антигенов II класса главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) (HLA-DR) с Т-клеточным рецептором. Исследования показали, что в крови пациентов контрольной группы через 12 и 24 ч после поступления относительное содержание HLA-DR⁺-клеток было достоверно выше, чем у пациентов основной группы и нормальных значений (табл. 4), что свидетельствует о праймировании клеток для контакта с бактериальными антигенами и вероятно более высокой степени бактериемии в крови у больных контрольной группы.

Если распознавание бактериальных антигенов и их презентация Т-лимфоцитам/хелперам предшествуют развитию специфического гуморального иммунитета, то экспрессия моноцитами крови рецепторов, распознающих паттерны патогенных бактерий или Toll-like-рецепторов (TLR), отражает активацию неспецифической антибактериальной защиты. При этом происходит инициация ряда биохимических каскадов, что приводит к увеличению секреции провоспалительных цитокинов, хемокинов, протеолитических ферментов, усилению экспрессии адгезионных молекул, что обеспечивает участие клеток в воспалении и регенерации. У пациентов обеих групп содержание клеток, экспрессирующих TLR (CD14⁺-клеток), было снижено (табл. 5), таким образом можно говорить о снижении неспецифической антибактериальной резистентности в обеих группах. Достоверность различия между группами отсутствует.

Важным фактором местного иммунитета слизистых оболочек является sIgA [8], который продуцируется активированными В-лимфоцитами и эпителиальными клетками слизистых оболочек и необходим для ранней неспецифической антимикробной защиты слизистых оболочек. Слизистая оболочка является барьером на пути бактериальной транслокации [7]. Содержание sIgA косвенно

Таблица 3

Содержание лимфоцитов (%) в крови у пострадавших ($M \pm m$)

Показатель по дням	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
При поступлении	5,7 \pm 0,1*#	18,4 \pm 2,0*
Через 12 ч	7,5 \pm 0,4*	19,3 \pm 1,1*
1-е сутки	12,5 \pm 1,2*#	29,2 \pm 5,1 \pm 5,1
Норма	37 \pm 4,5	

Здесь и в табл. 4–6: * $p < 0,05$ по сравнению с нормой, # $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4

Содержание HLA-DR⁺-мононуклеаров (%) в крови у пострадавших ($M \pm m$)

Показатель по дням	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
При поступлении	47,3 \pm 2,5	59,0 \pm 11,0
Через 12 ч	52,6 \pm 2,6	75 \pm 8,1*#
1-е сутки	53,8 \pm 1,5	69 \pm 0,4*#
Норма	40 \pm 0,5	

Таблица 5

Содержание CD14⁺-моноцитов (%) в крови у пострадавших ($M \pm m$)

Показатель по дням	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
При поступлении	3,1 \pm 0,2*	3,9 \pm 0,5*
Через 12 ч	2,0 \pm 0,6*	4,3 \pm 0,6*
1-е сутки	2,0 \pm 0,2*	4,3 \pm 0,9*
Норма	8,4 \pm 0,5	

Таблица 6

Содержание sIgA (мг/мл) в крови у пострадавших ($M \pm m$)

Показатель по дням	Основная группа, n=39	Контрольная группа, n=40
При поступлении	2,2 \pm 0,1	3,5 \pm 0,3
Через 12 ч	1,5 \pm 0,3	5,7 \pm 0,5*#
1-е сутки	1,0 \pm 0,0	5,2 \pm 0,3*#
Норма	2,5 \pm 0,5	

показывает на состояние иммунитета слизистых оболочек.

Увеличение содержания sIgA наблюдалось у пациентов контрольной группы на протяжении всего острого периода после травмы, а пик отмечен через 12 ч (табл. 6), тогда как в основной группе содержание sIgA оставалось в пределах нормальных значений. Таким образом, полученные данные

позволяют предположить, что применение субстратных антигипоксантов может способствовать нормализации уровня секреторного иммуноглобулина А.

Проведенное исследование позволяет утверждать, что тяжелая сочетанная травма в остром периоде травматической болезни сопровождается реакцией иммунной системы, выражающейся в изменении качественного и количественного состава лейкоцитарного пула клеток крови. В частности, в обеих группах обследованных больных отмечено снижение числа лимфоцитов при росте общего числа лейкоцитов. Также отмечено снижение числа CD14⁺-моноцитов в крови у пострадавших обеих групп, что говорит о снижении неспецифической антибактериальной резистентности в обеих группах. Применение антигипоксантов (субстратного антигипоксанта — цитофлавина) у пострадавших с сочетанной травмой сопровождалось снижением количества HLA-DR⁺-клеток и sIgA, что свидетельствовало о меньшей бактериемии, чем в контрольной группе. Кроме того, применение субстратного антигипоксанта в нашем исследовании сопровождалось снижением летальности с 32,5% в контрольной группе до 25,6% в основной (p<0,05). Использование цитофлавина в комплексной терапии пострадавших с шоком улучшает иммунный ответ, о чем свидетельствует нормализация показателей лимфоцитов, моноцитов, sIgA и HLA-DR⁺-мононуклеаров в крови у пострадавших.

Выводы. 1. Тяжелая сочетанная механическая травма приводит к снижению неспецифической антибактериальной резистентности, выражающейся в снижении числа CD14⁺-моноцитов.

2. Применение субстратных антигипоксантов сопровождается уменьшением количества HLA-DR⁺-клеток и нормализацией уровня секреторного иммуноглобулина А, что свидетельствует о снижении степени бактериемии.

3. В группе пациентов, получавших антигипоксанты, летальность была ниже, чем в контрольной группе на 6,9% (p<0,05).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Александрова А. Е. Антигипоксическая активность и механизмы действия некоторых синтетических и природных соединений // Эксперим. и клин. фармакол. 2005. № 5. С. 72–78.
2. Афанасьев В. В., Лукьянова И. Ю. Особенности применения цитофлавина в современной клинической практике. СПб.: Тактик-Студио, 2010. 80 с.
3. Инфузионно-трансфузионная терапия пострадавших с сочетанными шокогенными повреждениями в остром периоде травматической болезни: пособие для врачей / Под ред. С. Ф. Багненко, Ю. С. Полушина. СПб.: СПбНИИСП им. И. И. Джанелидзе, 2012. 36 с.
4. Назаренко Г. И. Прогнозирование длительности течения и исхода шока при механических повреждениях: метод. реком. СПб.: СПбНИИ СП им. И. И. Джанелидзе, 1988. 12 с.
5. Селезнев С. А., Багненко С. Ф., Шапот Ю. Б., Курыгин А. А. Травматическая болезнь и ее осложнения: монография. СПб.: Политехника, 2004. 414 с.
6. Сочетанная механическая травма: Руководство для врачей / Под ред. А. Н. Тулупова. СПб.: Стиск, 2012. 393 с.
7. Jason M. B., Daniel C. D. Microbial translocation across the GI tract // Ann. Rev. Immunol. 2012. Vol. 30. P. 149–173.
8. Wines B. D., Hogarth P. M. IgA receptor in health and disease // Tissue Antigens. 2006. Vol. 68, № 2. P. 103–114.

Поступила в редакцию 30.09.2015 г.

D. Sh. Sa'dulaev, P. A. Dubikaitis, M. E. Malyshev

INFLUENCE OF SUBSTRATE ANTIHYPOXANT ON THE IMMUNE SYSTEM CONDITION IN VICTIMS WITH SHOCKOGENETIC TRAUMA

I. I. Dzhanelidze Saint-Petersburg Research Institute of Emergency Medicine

The observation research of victims with severe combined injury was made, the patients were treated by substrate antihypoxant (cytoflavin) in complex of medical care. The authors revealed a decrease of the number of lymphocytes, CD14⁺ monocytes and growing number of HLA-DR⁺ mononuclear cells. There was noted a significant reduction of the growth of the number of HLA-DR⁺ mononuclear cells and lower lethality rate in case of application of substrate antihypoxants in complex treatment of given patients.

Key words: *emergency medicine, polytrauma, antihypoxant*