

Способ ретроспективного анализа динамики некоторых иммунологических и клиничко-лабораторных показателей у пациентов с ожоговой болезнью

**Белорусский государственный медицинский университет,
Центральная научно-исследовательская лаборатория**

Предложен способ ретроспективного анализа динамики некоторых иммунологических и клиничко-лабораторных показателей при ожоговой болезни. В основу способа положено введение интегрального показателя – процент длительности болезни. Этот показатель отражает количество суток, прошедших от момента травмы на момент исследования и длительность нахождения пациента в отделении реанимации. Показана эффективность использования этого показателя для анализа динамики изменения адгезивной активности нейтрофилов периферической крови и уровня иммуноглобулинов.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, длительность болезни, нейтрофилы, адгезия, миграция, метаболизм, иммуноглобулины

O.V. Petrakova, I.E. Gurmanchuk, O.N. Pochepen

A method of retrospective analysis of some immunological and clinicolaboratorial indices dynamics in patients with burn disease

A method of retrospective analysis of some immunological and clinicolaboratorial indices dynamics in patients with burn disease is proposed. The basis of this method is the introducing into practice of an integral index – percent of disease's duration. This index reflects the number of days, past from the moment of trauma to the moment of research and the duration of being of patient in the intensive care unit. The efficiency of usage of this index for the analysis of adhesive activity of neutrophils and levels of immunoglobulins is shown.

Key-words: burn disease, duration of disease, neutrophils, adhesion, migration, metabolism, immunoglobulins.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые за последние годы в лечении пациентов с обширной ожоговой травмой, термические повреждения до сих пор занимают ведущее место по летальности среди других видов травм. Согласно данным официальной статистики [1] в Республике Беларусь смертность от несчастных случаев, связанных с дымом, огнем и пламенем в 2002 году составила 6,8 человек на 1 000 населения, а в 2003 – 7,3 человека на 1 000 населения. По данным мировой литературы 30% больных с ожогами 50% поверхности тела погибают [10], а в 50-80% всех случаев причиной смерти являются инфекционные осложнения [9].

Согласно современным представлениям, характер течения воспалительного процесса зависит, главным образом, от способности самого организма поддерживать баланс между интенсивностью проявления про- и противовоспалительных реакций, что во многом определяется эффективностью функционирования иммунной системы [3, 7]. Наличие индивидуальных особенностей функциональных систем организма, и в частности, иммунной реактивности приводит к тому, что течение болезни у обожженных пациентов с исходно сопоставимыми собственными характеристиками (возраст, отсутствие сопутствующих заболеваний) и исходно соотносимым объемом повреждения (площадь и глубина ожога) может протекать совершенно по-разному, вплоть до различного исхода заболевания. Как длительность самой болезни, так и скорость заживления поврежденных

участков кожи сильно варьируют. Чем более интенсивным является воздействие повреждающего фактора, тем с большей силой проявляются индивидуальные особенности реактивности организма в ходе болезни. Это не позволяет четко выделить группы пациентов и стадии болезни, основываясь исключительно на временном (времени, прошедшем с момента получения травмы) и микробиологическом (присутствии или отсутствии в системной циркуляции микроорганизма и/или продуктов их жизнедеятельности) критериях.

Исследования, подводимые ранее и посвященные изучению иммунного статуса при ожоговой травме, в качестве основы для периодизации ожоговой болезни использовали сроки, определяемые при наблюдении за клиническим состоянием пациента (период ожогового шока, токсемии, септикотоксемии, реконвалесценции) или фаз развития иммунного ответа (неспецифический и специфический иммунный ответ). Исследования проводились главным образом на 1-4-7 [8] сутки с момента получения травмы, далее на 7-10-14 [2], и далее, только при выздоровлении пациента. С учетом того, что длительность нахождения пациента в отделении реанимации в разных случаях составляет от 45 до 80 и более суток, период примерно с 30 суток до момента выздоровления пациента часто оставался вне внимания исследователей, поскольку с достаточной степенью сложности можно было провести его периодизацию.

Современная теория формирования стресс-зависимых реакций позволяет говорить о том, что характер течения заболевания и общая длительность ожоговой болезни будут являться результатом взаимодействия трех основных факторов: интенсивности повреждающего воздействия, реактивности функциональных систем организма, частоты и интенсивности хирургических операций [4]. При этом критическими, определяющими факторами являются индивидуальные особенности реактивности и функциональных систем иммунитета, газообмена, гемодинамики, выделения. Однако, на практике, формирование в достаточной степени однородной по комплексу объективно значимых для течения болезни факторов выборки абсолютно невозможно. Учет ряда факторов возможен исключительно при проведении экспериментальных исследований с использованием лабораторных животных. Однако постановке экспериментального исследования должно предшествовать возникновение гипотезы, основывающейся на анализе клинико-лабораторных и научных данных, полученных при проведении поисковых и пилотных исследований на моделях *in vitro* с использованием клинического материала. Для сравнения результатов, получаемых на всем протяжении ожоговой болезни необходимо применение метода, который бы позволил унифицировать всех пациентов по значимым для течения болезни факторам. Поставленная задача решается введением интегрального показателя – «процент длительности болезни» (ПБД).

Материалы и методы. Были обследованы пациенты, находящиеся на лечении в палате интенсивной терапии и реанимации ожоговой отделения больницы скорой медицинской помощи г.Минска (Республиканский ожоговый центр). В исследование было включено 37 пациентов с обширной ожоговой травмой. Средний возраст пациентов составил $33,5 \pm 1,8$ года. Общая площадь ожогов – от 15% до 60% (глубокого от 10% до 50%), у некоторых пациентов наблюдалась ингаляционная травма. Индекс тяжести поражения по Франку составил от 40 до 100 ЕД. Длительность нахождения в отделении реанимации – $43,4 \pm 3,7$ суток (15-94 суток). Контрольная группа включала 23 практически здоровых донора (30, при исследовании уровней иммуноглобулинов).

Всем пациентам при поступлении в больницу в первые четверо суток проводили забор крови из локтевой вены. Кровь стабилизировали внесением гепарина в концентрации 25

ЕД/мл. Исследование адгезивной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови проводили согласно методу, описанному Хаитовым Р.М. и соавт. [5]. В качестве стимулятора использовали раствор РМА – phorbol 12-myristate 13-acetate (Sigma P8139) в конечной концентрации 100 нг/мл. Результаты выражали в процентах адгезировавшихся клеток по отношению к общему количеству клеток, внесенных в лунку. Вычисляли индекс стимуляции, равный отношению количества адгезировавшихся клеток в присутствии стимулятора к количеству адгезировавшихся клеток в отсутствии стимулятора. Исследование концентраций иммуноглобулинов проводили с использованием коммерческих систем «Turbiquant» производства «Bering» методом, в основе которого лежит иммунохимическая реакция связывания исследуемого вещества со специфичным ему антителом, содержащемся в реагенте, в результате чего изменяется мутность раствора, которую замеряли нефелометрически с использованием нефелометра фирмы «Bering». Результаты исследований выражали в граммах определяемого вещества на литр.

Исследования проводили на 1-3 сутки с момента поступления пациента в отделение реанимации до момента перевода пациента из отделения интенсивной терапии в общее отделение. Периодичность проведения исследований составляла 7 дней. При анализе полученных данных ретроспективно были исключены впоследствии умершие пациенты, а так же те исследования, на момент которых у пациентов, было зарегистрировано развитие сепсиса (клинически или документально подтвержденного).

Ретроспективно, для каждого исследования был проведен расчет введенного показателя – ПДБ. ПДБ вычисляли как отношение количества суток, прошедших с момента травмы на момент исследования к длительности (количеству суток) нахождения пациента в отделении реанимации до момента перевода его в общее отделение (общая длительность заболевания), которое умножали на 100% (рисунок 1).

$$\text{ПДБ} = \frac{\text{количество суток, прошедших с момента травмы на момент исследования}}{\text{общая длительность заболевания}} \times 100 \%$$

Рис.1. Способ расчета ПДБ

Этот показатель позволяет достичь большей однородности в группе пациентов и унифицировать их по интенсивности повреждающего воздействия, реактивности функциональных систем организма, частоте и интенсивности хирургических операций. Использование этого показателя позволяет учесть факторы, существующие и предполагаемые, оказывающие действие на конечный результат – длительность нахождения пациента в отделении реанимации (количество суток, необходимых для стабилизации жизненно важных функций), которая была взята за 100%.

Результаты и обсуждение. При ретроспективном анализе данных, полученных при исследовании адгезивной активности нейтрофилов периферической крови пациентов в течение болезни, было выявлено отсутствие статистически достоверной линейной зависимости между введенным показателем ПДБ и спонтанной адгезивной активностью клеток ($R=-0,2\pm 0,02$, $p=0,2$). Однако графический анализ полученных данных, представленный на рисунке 2, позволил предположить, что между этими показателями существует непрямая зависимость.

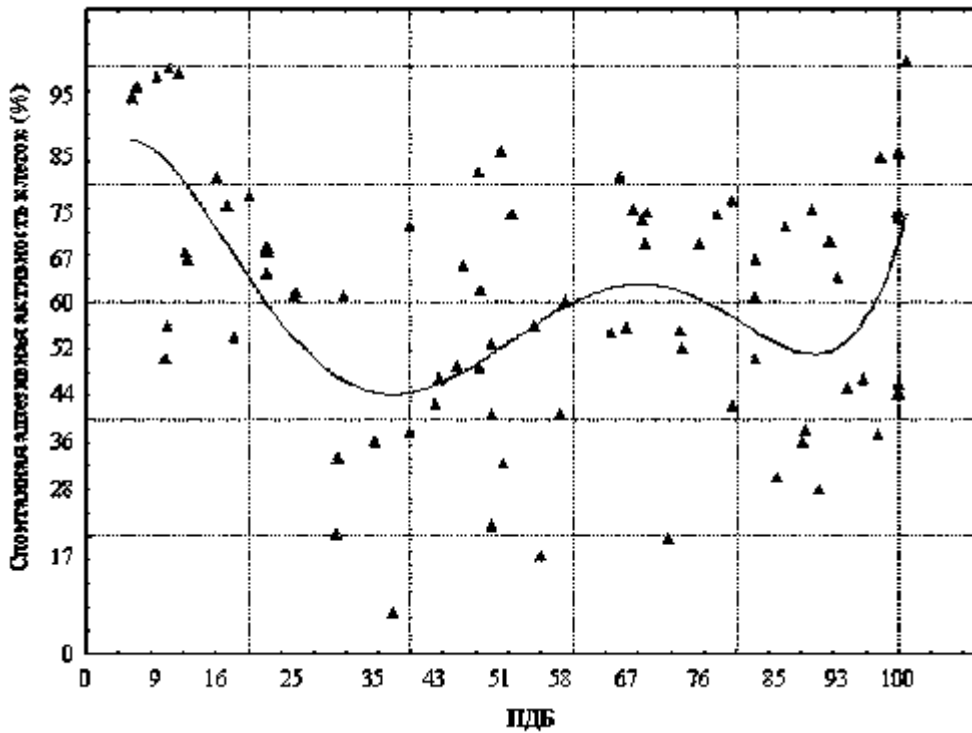


Рис.2. Динамика изменения спонтанной адгезивной активности нейтрофилов пациентов с обширной ожоговой травмой в зависимости от ПДБ на момент исследования

Дальнейший статистический анализ полученных данных с использованием метода расчета корреляционных отношений [6] показал, что между этими параметрами существует достоверная ($p < 0,01$) непрямая взаимосвязь. Так, корреляционное отношение этих двух показателей составило $r_{yx} = 0,6 \pm 0,05$. Критерий достоверности отличия корреляционного отношения от нуля с использованием критерия Фишера составил 11,4 (при этом T критическое для $p = 0,01$ составляет 2,56) и, таким образом, $T_{\text{крит}} \ll T$). Таким образом, можно сделать вывод о наличии тесной непрямой взаимосвязи между спонтанной адгезивной активностью нейтрофилов периферической крови и введенным показателем ПДБ.

Это выявленное взаимоотношение позволило, основываясь на динамических изменениях активности клеток в зависимости от ПДБ, сформировать следующие подгруппы:

- А1 – пациенты, на 2-3 сутки с момента получения травмы, у которых ПДБ составил не более 10% ($8,5 \pm 1,1$);
- А2 – пациенты, у которых ПДБ составил 10-25% ($17,7 \pm 1,3$);
- А3 – пациенты, у которых ПДБ составил 25,1-50% ($42,0 \pm 1,5$);
- А4 – пациенты, у которых ПДБ составил 50,1-75% ($63,5 \pm 1,6$);
- А5 – пациенты, у которых ПДБ составил 75,1-100% ($89,8 \pm 1,6$).

Далее, основываясь на сформированных подгруппах, был проведен ретроспективный анализ данных, полученных при динамическом наблюдении за пациентами в течение всего срока болезни. Результаты исследований представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Динамика изменения адгезивной активности нейтрофильных гранулоцитов пациентов с обширной ожоговой травмой в течение болезни ($M (\%) \pm m$)

| Группа | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 |
|--|----------------------|----------------------------------|---------------|----------------|-----------------|
| Норма | | | | | |
| СПОНТАННАЯ АДГЕЗИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК (%) | | | | | |
| 40,9±2,1 | 97,8±0,9 ddd *** | 66,0±2,6 ^d ddd *** | 46,0±4,7 | 57,6±5,0 dd | 58,4±3,7 ddd |
| ИНДЕКС СТИМУЛЯЦИИ | | | | | |
| 1,3±0,05 | 0,81±0,01 ddd *** | 1,2±0,06 * | 1,7±0,18 d | 1,6±0,2 | 1,3±0,08 |

Условные обозначения: d – достоверность различий между группой пациентов и контрольной группой (d – p<0,05; dd– p<0,01; ddd – p<0,001)

* достоверность различий между группой пациентов следующей группой пациентов в динамике (* – p<0,05; **– p<0,01; *** – p<0,001)

Таблица 2

Динамика изменения уровней иммуноглобулинов классов G, M, A в плазме крови пациентов с обширной ожоговой травмой в течение болезни. (M (%))±m)

| Группа | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 |
|-------------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| Норма | | | | | |
| IgG (грамм/литр) | | | | | |
| 13,5±1,0 | 7,3±0,5 dd | 8,9±2,4 ** | 15,4±1,1 | 13,3±1,3 | 13,3±1,2 |
| IgM (грамм/литр) | | | | | |
| 1,8±0,2 | 1,0±0,2 d | 1,4±0,2 | 1,7±0,3 | 1,3±0,08 dd | 1,3±0,1 d |
| IgA (грамм/литр) | | | | | |
| 2,4±0,2 | 2,0±0,3 | 2,9±0,4 | 3,3±0,3 ddd | 3,2±0,3 dd | 3,1±0,2 ddd |

Условные обозначения: d – достоверность различий между группой пациентов и контрольной группой (d – p<0,05; dd– p<0,01; ddd – p<0,001)

* – достоверность различий между группой пациентов следующей группой пациентов в динамике (* – p<0,05; **– p<0,01; *** – p<0,001)

Таким образом, при благоприятном течении болезни были выявлены следующие динамические изменения исследуемых показателей в зависимости от ПДБ. Первые трое суток с момента получения травмы характеризовали предельно высокой спонтанной адгезивной активностью клеток с характерным отрицательным ответом на стимулирующее воздействие, при этом концентрация IgG и IgM в первые трое суток так же была достоверно ниже нормы. Первая четверть болезни характеризовалась достоверным снижением спонтанной адгезивной активности клеток, но она оставалась выше контрольного уровня; нормализацией ответа на PMA; уровень IgM не отличался от контрольных значений, а уровень IgG оставался ниже контрольного. Вторая четверть болезни характеризовалась еще большим снижением спонтанной адгезивной активности клеток, при этом наблюдался максимальный на всем протяжении болезни индекс стимуляции. Уровни IgG и IgM уже не отличались от контрольных, однако достоверно увеличивался уровень IgA относительно контрольного уровня. В третьей четверти болезни спонтанная адгезивная активность клеток снова была выше контрольного уровня, уровень IgM снижался относительно контрольных значений, а концентрация IgA была достоверно

выше контрольной. Незадолго до перевода из отделения реанимации (четвертая четверть болезни, период стабилизации жизненно важных функций) у пациентов сохранялась повышенная спонтанная и стимулированная адгезивная активность клеток, уровень IgM был ниже контрольного уровня, а концентрация IgA была достоверно выше контрольной.

Выводы. Таким образом, на основании результатов проведенного исследования можно считать, что использование показателя ПДБ (процент длительности болезни) для проведения ретроспективного анализа иммунологических и клинико-лабораторных показателей при обширной ожоговой травме позволяет проводить динамический анализ и сравнение этих показателей в течение всей болезни при условии формирования однородной по характеру течения болезни группы пациентов. Этот показатель позволяет достичь большей однородности в группе пациентов и унифицировать их по интенсивности повреждающего воздействия, реактивности функциональных систем организма, частоте и интенсивности хирургических операций. Использование этого показателя позволяет учесть факторы, существующие и предполагаемые, оказывающие действие на конечный результат – длительность нахождения пациента в отделении реанимации (количество суток, необходимых для стабилизации жизненно важных функций), которая была взята за 100%.

Метод может быть использован в научно-исследовательских, клинико-диагностических лабораториях, научных центрах для анализа и разработки методов лечения ожоговой болезни, оценки эффективности применяемой терапии, для ретроспективной обработки результатов научных исследований и клинико-лабораторных данных. Этот способ позволяет достичь однородности исследуемой группы и унифицировать ее по ряду значимых для течения болезни факторов, что в свою очередь позволит оценить прогностическую ценность исследуемых показателей при его использовании в клинической практике.

Литература

1. Здравоохранение в Республике Беларусь: официальный статистический ежегодник за 2002 год. – Мн.: ГУРННБ. – 2003 – 365 с.
2. Инфекция у обожженных: вопросы патогенеза, профилактики и лечения / А.А. Алексеев, В.П. Яковлев, В.Д. Федоров, М.Г. Крутиков // Хирургия. -1999. – С. 4-9.
3. Миронов П.И., Альес В.Ф. Молекулярные аспекты системного воспалительного ответа при сепсисе // Интенсивная терапия. – 1999. – №4 – С.1-9.
4. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: руководство для врачей. – Спб: СпецЛит, 2000. – 480с.
5. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. – М.: ВНИРО, 1995. – 219 с.
6. Шитиков В.К., Розенберг Г.С., Зинченко Т.Д. Количественная гидроэкология: методы системной идентификации. – Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. – 463 с.
7. Bone R.C., Grodzin C. J., Balk R. A. Sepsis: A New hypothesis for pathogenesis of the disease process // Chest. – 1997. – Vol. 112, № 7. – P. 235-243.
8. Effect of CD11b/CD18 on burn-activated PMN-mediated permeability of pulmonary microvascular in isolated perfused lung / Y. Fang, Y. Chen, S. Ge e.a. – Zhonghua Wai Ke Za Zhi. – 1998. – Vol. 36, №11. – P. 690-693
9. Greenfield E., McManus A.T. Infectious complications: prevention and strategies for their control // Nurs Clin North Am. – 1997 – Vol. 32, №.2 – P. 297-309.
10. Loannovich J. D. The treatment of burns disease in the hippocratic era // Annals Of Burns And Fire Disasters. – 1997 – Vol. 11 – No. 4.

Репозиторий БГМУ