

УДК 612.017.1-053.2:616.728.2-007.17-089.227.84

**ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОГО ФАКТОРА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ДИСПЛАСТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА В ПРОЦЕССЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТОДОМ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА**

**Кузнецова Е.И., Чепелева М.В., Тёпленький М.П.**

*ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Минздрава РФ», Курган, e-mail: citoz@mail.ru*

Изучено влияние возрастного фактора на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови у детей и подростков с патологией тазобедренного сустава в процессе хирургического лечения методом чрескостного остеосинтеза. Выявлено, что фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови имеет отличия в зависимости от возраста ребёнка. Наиболее выраженные изменения со стороны исследуемых показателей наблюдаются в возрасте 3 – 6 лет и 11 – 15 лет. Данные возрастные периоды совпадают с периодами физиологической перестройкой иммунной системы детей и подростков, что необходимо учитывать детскому ортопеду при проведении хирургических вмешательств на скелете.

**Ключевые слова:** фагоцитарная активность нейтрофилов, чрескостный остеосинтез, дети, диспластическая патология тазобедренного сустава

**THE EFFECT OF AGE-RELATED FACTOR ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH THE HIP DYSPLASTIC PATHOLOGY DURING SURGICAL TREATMENT BY TRANSOSSEOUS OSTEOSYNTHESIS METHOD**

**Kuznetsova E.I., Chepeleva M.V., Teplenkiy M.P.**

*Federal State Budgetary Institution Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: citoz@mail.ru*

The effect of age-related factor on peripheral blood neutrophil phagocytic activity has been studied in children and adolescents with the hip pathology in the process of surgical treatment by transosseous osteosynthesis method. As it has been revealed, the phagocytic activity of peripheral blood neutrophils has differences depending on the child's age. The most marked changes in the studied parameters are observed at the age of 3-6 years and 11-15 years. These age-related periods coincide with the periods of physiological reorganization of children's and adolescents' immune system that a pediatric orthopedist should take into consideration when performing surgeries on the skeleton.

**Keywords:** neutrophil phagocytic activity, transosseous osteosynthesis, children, dysplastic pathology of the hip

В свете современных представлений, нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются полипотентной популяцией клеток иммунной системы (ИС), относящейся к врожденному иммунитету, обладающей важными функциональными возможностями, которые позволяют активировать и регулировать адаптивный иммунитет, способствуя его полноценной реализации [3].

В процессе формирования иммунная система переживает ряд физиологических периодов, по мнению ряда авторов являющихся «критическими», характеризующихся максимальным риском возникновения инфекционных патологий и обусловленных недостаточностью функций иммунитета. Окончательно выравнивание всех систем иммунорегуляции с выходом на «взрослый» фенотип происходит не ранее 16 – 18 летнего возраста [2, 3].

Хирургические вмешательства, наркоз, металлоконструкции, сопутствующая фармакотерапия, несомненно, оказывают нега-

тивное воздействие на не успешную окончательно сформированную иммунную систему ребёнка. При этом сведений о влиянии возрастного фактора на показатели врожденного иммунитета у детей и подростков при проведении хирургических вмешательств на скелете в доступной литературе мы не встретили.

**Цель исследования** – провести сравнительный анализ динамики показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у детей и подростков с патологией тазобедренного сустава в процессе хирургического лечения методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову.

**Материалы и методы исследования**

Проведено обследование 33 пациентов в возрасте от 3 до 15 лет с диспластической патологией тазобедренного сустава. Пациенты разделены на три группы с учетом возраста. В первую группу включены 10 детей в возрасте 3-6 лет, во вторую – 10 детей в возрасте 7-10 лет, в третью – 13 детей 11-15 лет.

Среди клинических проявлений заболевания отмечены: повышенная утомляемость, нарушение опорности и укорочение конечности, умеренное ограничение отведения в суставе. Болевой синдром был не выраженный. По данным рентгенографии, во всех наблюдениях имело место нарушение суставных соотношений, обусловленное недоразвитием впадины и деформацией проксимального отдела. Начальные рентгенологические признаки артроза (0–I ст. по Tonnis) выявлены у трех детей 14–15 лет. Во всех наблюдениях произведены внесуставные, реконструктивные операции. Для фиксации остеотомированных фрагментов использовали аппарат Илизарова. В анализируемой группе пациентов лечебный процесс протекал без воспалительных осложнений. Из обследуемой выборки были исключены пациенты с сопутствующей соматической патологией, способной повлиять на результаты иммунологического исследования. Родители детей, участвовавших в исследовании, дали информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и публикацию данных, полученных в результате исследования, без идентификации личности.

Для изучения фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) применялась стандартная методика, основанная на количественном определении погложительной и переваривающей способности нейтрофилов по отношению к микробной тест – культуре (*Staphylococcus epidermidis* штамм № 9198 НИИЭМ). Рассчитывались следующие показатели ФАН: фагоцитарный показатель (ФП, %), фагоцитарное число (ФЧ, %). Лизосомальную активность нейтрофилов определяли, используя цитохимическое исследование клеток. Активность миелопероксидазы (МП) определялась по Грехему – Кнолю. Уровень лизосомальных катионных белков (КБ) цитоплазмы устанавливали в реакции с бромфеноловым синим. Уровень МП и КБ выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Для подсчета нейтрофильных ловушек (НВЛ) использовали мазки крови, окрашенные по Романовскому – Гимза. Учет ФАН производился при помощи световой микроскопии под иммерсией, исходя из 100 подсчитанных нейтрофилов.

Анализ результатов исследования проводили с помощью программного обеспечения AtteStat, выполненного как надстройка к «Microsoft Excel» программного продукта «Microsoft Office». Полученные данные обрабатывались с помощью методов непараметрической статистики с использованием U – критерия Вилкоксона, Манна – Уитни.

### Результаты исследования и их обсуждение

У самых маленьких пациентов (3–6 лет) ранний послеоперационный период (14 суток после остеосинтеза) характеризовался статистически значимым повышением ФП с  $59,13 \pm 5,57\%$  до  $59,13 \pm 5,57\%$  при норме 65–88%. ФЧ достоверно ( $p \leq 0,05$ ) повышалось с  $6,83 \pm 0,55\%$  до  $8,4 \pm 0,2\%$  при норме 6–10%. МП снижалась с  $2,1 \pm 0,09\%$  до  $1,8 \pm 0,15\%$  при норме 2,1–2,5%. Было выявлено увеличение количества нейтрофильных ловушек с  $1,0 \pm 0,53\%$  до  $2,6 \pm 0,4\%$  при норме 0–2,0%. Содержание катионных белков оставалось на уровне дооперацион-

ных значений и не выходило за пределы границ возрастной нормы (таблица). На 28 сутки остеосинтеза ФП, МП вернулись к исходным показателям (ФП –  $62,8 \pm 6,07\%$ , МП –  $2,12 \pm 0,21$ ). ФЧ и количество нейтрофильных ловушек по прежнему превышали значения дооперационного периода (ФЧ –  $7,75 \pm 0,47\%$ , НВЛ –  $2,5 \pm 0,05$ ).

У детей в возрасте 7–10 лет иммунологические изменения были менее выраженными. Ранний послеоперационный период характеризовался достоверным увеличением количества нейтрофильных ловушек с  $1,25 \pm 0,25\%$  до  $2,8 \pm 0,37\%$  через 14 суток после остеосинтеза, до  $3,7 \pm 1,2\%$  через 28 суток после остеосинтеза при норме 0–2,0%. При этом на протяжении 28 суток отсутствовали статистически значимые изменения со стороны ФП, ФЧ, МП, КБ.

У подростков в возрасте 11–15 лет динамика иммунологических показателей носила несколько другой характер. На 14-е сутки остеосинтеза было выявлено достоверное ( $p \leq 0,05$ ) повышение ФЧ с  $7,7 \pm 0,52\%$  до  $9,9 \pm 0,6\%$  при норме 6–10%, увеличение МП с  $2,3 \pm 0,11\%$  до  $2,5 \pm 0,1\%$  при норме 2,1–2,5%. Количество нейтрофильных ловушек повышалось с  $1,7 \pm 0,21\%$  до  $4,5 \pm 0,58\%$  при норме 0–2,0%. Содержание катионных белков оставалось на уровне дооперационных значений и не выходило за пределы границ возрастной нормы (табл. 1). На 28 сутки остеосинтеза сохранялось более высокое, чем до остеосинтеза ФЧ ( $10,5 \pm 0,83\%$ ). Количество нейтрофильных ловушек составляло  $3,2 \pm 0,05\%$  и превышало дооперационные значения.

Клинические иммунологи выделяют несколько «критических» зон, связанных с физиологической перестройкой иммунной системы, одна из которых начинается в возрасте 4 лет и продолжается до 6-летнего возраста. Согласно литературным данным, перестройка гемопоэза в этом возрасте может сопровождаться появлением иммунопатологических состояний [6].

Только в этой возрастной группе в послеоперационном периоде наблюдалось кратковременное снижение МП (таблица). Как известно, выраженное снижение миелопероксидазы свидетельствует о декомпенсации противомикробной защиты и считается прогностически неблагоприятным признаком в плане развития послеоперационных осложнений [7].

Другой период иммунологической перестройки в жизни детей связан с резкой гормональной перестройкой организма подростков [5, 8]

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов на этапах хирургического лечения

Показатель	14 сутки	28 сутки
3 – 6 лет	ФП (%) ↑*	ФЧ (%) ↑*
	ФЧ (%) ↑*	НВЛ (%) ↑*
	МП ↓*	
	НВЛ (%) ↑*	
7 – 10 лет	НВЛ (%) ↑*	НВЛ (%) ↑*
11 – 15 лет	ФП (%) ↑*	ФП (%) ↑*
	ФЧ (%) ↑*	ФЧ (%) ↑*
	МП ↑*	НВЛ (%) ↑*
	НВЛ (%) ↑**	

Примечание. \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,05$  в сравнении с показателями дооперационного периода.

У девочек этот этап начинается с 12–13 лет, у мальчиков – с 14–15 лет. Иммунная система становится чувствительной к действию внешних воздействий, включая хирургические вмешательства [4].

Во всех группах в послеоперационном периоде мы наблюдали статистически значимое повышение количества нейтрофильных ловушек (Neutrophil Extracellular Traps, NETs). Установлено, что сети могут формироваться как альтернатива фагоцитозу. Нейтрофилы после активации выбрасывают во внеклеточное пространство сетеподобные структуры, состоящие из ДНК, которые изолируют и уничтожают грамположительные и грамотрицательные бактерии, вирусы, грибковые патогены [9, 10].

Необходимо отметить, что наиболее высокое содержание нейтрофильных ловушек в послеоперационном периоде было выявлено в группе подростков в возрасте 11 – 15 лет.

Наименее выраженная динамика со стороны исследуемых показателей отмечалась в группе 7–10 лет.

**Заключение**

Таким образом, фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови при чрескостном остеосинтезе имеет отличия в зависимости от возраста ребёнка. Наиболее выраженные изменения наблюдаются в возрасте 3 – 6 лет и 11 – 15 лет. Данные возрастные периоды совпадают с периодами физиологической перестройкой иммун-

ной системы детей и подростков, что необходимо учитывать детскому ортопеду при проведении хирургических вмешательств на скелете, включая чрескостный остеосинтез по Илизарову.

**Список литературы**

1. Казмирчук В.Е., Ковальчук Л.В., Мальцев Д.В. Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями: учебник для мед. ВУЗ – 2-е изд. – К.: Медицина, 2012. – 521 с.
2. Корнев М.А., Петрова Т.Б. Развитие и возрастные изменения органов иммунной системы человека: учеб. – метод. пособие – СПб.: Издание ГПМА, 2000. – 20 с.
3. Нестерова И.В. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле // Иммунология. – 2015. – № 4. – С. 257–265.
4. Справочник по иммуноterapiи для практического врача / под ред. А.С. Симбирцева. – М.: Диалог, 2003. – 479 с.
5. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е. Клиническая иммунология и иммунопатология детского возраста: руководство для врачей. – М.: Медицина, 1996. – 384 с.
6. Титов Л.П., Кирильчик Е.Ю., Канашкова Т.А. Особенности строения, развития и функционирования иммунной системы детского организма: учеб. – метод. пособие. – Минск: БГМУ, 2007. – 28 с.
7. Ярилин А. А. Иммунология: учебник. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 752 с.
8. Ярцев М.Н., Яковлева К.П. Иммунная недостаточность: клинико-лабораторная оценка иммунитета у детей / М.Н. Ярцев, К.П. Яковлева // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 36–41.
9. Björnsdóttir H. Neutrophil NET formation is regulated from the inside by myeloperoxidase-processed reactive oxygen species / H. Björnsdóttir et al. // Free Radic Biol Med. – 2015. – № 15. – P. 1018–1025.
10. Zawrotniak M. Neutrophil extracellular traps (NETs) – formation and implications / M. Zawrotniak, M. Rapala-Kozik // Acta Biochim Pol. – 2013. – Vol. 3, № 60. – P. 277–84.