

MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF THE INTERACTION OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *ESCHERICHIA COLI* WITH NANOSCALE METAL PARTICLES, RECEIVED FROM THE SURFACE OF DENTAL IMPLANTS

Labis V. V.¹, Bazikyan E. A.¹, Kozlov I. G.², Sizova S. V.³,
Khaidukov S. V.³, Nemtseva N. V.⁴, Gritsenko A. V.^{4,5}

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Evdokimov, Moscow; ²Russian National Research Medical University named by N. I. Pirogov, Moscow; ³Institute of Bioorganic Chemistry named by Academicians M. M. Shemyakin and Y. A. Ovchinnikov, RAS, Moscow; ⁴Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg; ⁵Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

The purpose of this study was to investigate the interaction of nanosized metal particles obtained in the laboratory from the surface of Nobel Biocare dental implants with *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the presence of native and heat inactivated human serum. *In vitro* experiments it was established that when nanoparticles were added to test samples of native sera, the accumulated biomass of *S. aureus* and *E. coli* was increased by 8.1-8.3% in broth culture and *P. aeruginosa* by 42.9% in Comparison of control, indicating that they inhibited the bactericidal effect of the complement system. In addition, the potentiating effect of native serum on biofilm formation of bacteria on the surface of nanoparticles was recorded. Possible immunological consequences of interaction in the system “nanoparticle-whey protein-bacteria in the process of osseointegration” are discussed.

Key words: nanosized metal particles, peri-implantitis, mucositis, microbiological aspects

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА И КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ПЕРИОДА У ПАЦИЕНТОВ С ПРОНИКАЮЩИМИ РАНЕНИЯМИ ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА БЕСТИМ

Марачева Н. М.¹, Марачев С. И.²

¹Областная клиническая больница ОКБ № 3; ²ФГБОУ ВО ЮУГМУ
Минздрава России, Челябинск, Россия

Проведено исследование показателей системного иммунитета и клинического течения посттравматического периода у 38 пациентов с проникающими ранениями глазного яблока тяжелой степени. В первой группе 20 больных получали патогенетическое базовое лечение, во второй – 18 пациентам в состав базового лечения включали внутримышечные инъекции иммуномодулятора Бестим 100 мкг ежедневно в течение 5 суток, начиная с 3-х суток после ранения. Изучали субпопуляционный состав лимфоцитов в сыворотке крови на 2-3 и 10 сутки после ранения, сроки купирования воспалительных симптомов, клиническое течение посттравматического периода на 14 и 30-е сутки после ранения. Установлено, что включение иммуномодулятора Бестим в базовое лечение ПРГ приводило к увеличению абсолютного числа В2- и суммы В-лимфоцитов, абсолютного числа CD4⁺CD127⁺CD25⁻ и Т- активированных лимфоцитов, снижению относительного количества В1-лимфоцитов и отсутствию падения уровня Т-регуляторных клеток, что положительным образом влияло на клиническое течение посттравматического периода у пациентов 2-й группы: к 14 и 30 суткам увеличивалась частота купирования воспалительных симптомов как в группе в целом, так и на одного пациента и выздоровления к 1 месяцу после ранения.

Ключевые слова: проникающее ранение глаза, Бестим, проточная цитофлюориметрия, субпопуляционный состав лимфоцитов, клиническое течение посттравматического периода

Актуальность. Проникающие ранения глазного яблока (ПРГ) характеризуются высоким удельным весом криминальных и бытовых тяжелых травм с неблагоприятным функциональным исходом [3,4]. Применение современных методик хирургического и медикаментозного лечения ПРГ намного улучшило благоприятный исход, но частота удалений глазного яблока и инвалидизация пациентов по-прежнему остается на высоком уровне, что обусловлено развитием у 30-35% пациентов с ПРГ хронического посттравматического воспалительного процесса в сосудистом тракте глаза, имеющего аутоиммунный характер [1]. На сегодняшний день доказано, что нарушения иммунитета при ПРГ наблюдаются уже на ранних сроках посттравматического периода, что обосновало применение иммунокорректирующих препаратов в базовой терапии ПРГ [2,5].

Цель исследования: изучить иммунологическую и клиническую эффективность иммуностимулирующего препарата «Бестим» в комплексном лечении пациентов с ПРГ тяжелой степени.

Материалы исследования. Исследование проводилось на базе глазного отделения областной клинической больницы № 3 и лаборатории нейроиммунологии НИИ иммунологии и физиологии УрО РАН.

Материалом изучения послужили 38 больных с ПРГ. Критериями включения в группу были следующие: открытая травма глаза тяжелой степени, возраст пациентов от 18 до 50 лет, информированное и добровольное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения: возраст младше 18 и старше 50 лет, наличие онкозаболеваний или другой патологии, сопровождающейся иммунодефицитом, отсутствие приема внутрь глюкокортикоидной терапии.

Выполнено иммунологическое исследование сыворотки крови и традиционное офтальмологическое обследование. Материалом для иммунологических исследований служила венозная кровь. Забор крови осуществляли из кубитальной вены в условиях процедурного кабинета отделения утром, натощак в сроки 2-3 и 10 после ранения в стерильные пробирки системы «Вакуэйт». Полученная таким образом кровь в течение 2 часов доставлялась в лабораторию в термостабильных контейнерах. Цитофлуориметрические исследования проводили на проточном цитофлуориметре

FC 500 Becton Dickinson (США). Субпопуляционный состав лимфоцитов определяли с использованием следующих комбинаций моноклональных антител (МА): Т-reg и субпопуляции Т-хелперов – CD45-ЕCD, CD3-FITC, CD4-PC7, CD25-PC5, CD127-PE; В1 и В2-лимфоциты CD45-ЕCD, CD5-FITC, CD3-PE, CD19-PC7; также оценивали активированные В-лимфоциты CD20 – FITC, CD23-PE (все Becton Dickinson, USA).

Сравнительное клинико-инструментальное исследование выполнялось в 2 группах пациентов на 2-3 и 10 сутки после ранения. Группы были сопоставимы по тяжести травмы, осложняющим ранение факторам, степени выраженности воспалительной раневой реакции на 2-3 сутки. Средний возраст составил $29,3 \pm 3,2$ года.

Пациентам обеих групп выполняли в день поступления первичную хирургическую обработку ранения, в послеоперационном периоде назначали комплексное патогенетически ориентированное консервативное лечение. В первую группу (20 чел.) включали больных, получавших только традиционное лечение, пациентам 2-й группы (18 чел.), дополнительно, с 3 дня (после забора крови) назначали инъекции препарата «Бестим» 100 мг внутримышечно 1 раз в день № 5 инъекций. Перед введением сухой препарат разводили в 4 мл физиологического раствора.

Всем пациентам проводилось стандартное офтальмологическое обследование (визометрия, биомикроскопия переднего отдела глаза, прямая и обратная офтальмоскопия, тонометрия, ультрасонография глаза и орбиты, рентгеноскопия обзорная и по методу Комберга-Балтина). Изучали частоту купирования воспалительных симптомов к 14 и 30 суткам после ранения и частоту выздоровления к 1 месяцу. К воспалительным симптомам относили слезотечение, светобоязнь, цилиарную болезненность, отек эндотелия роговицы и преципитаты, отек и гиперемию радужки, фибрин в передней камере и в области зрачка, формирование задних синехий, общее их число в группах суммировали.

Результаты обрабатывали общепринятыми методами дескриптивной статистики и выражали в виде среднеарифметической (M) и её стандартной ошибки (m), $M \pm m$. Статистически значимые различия определяли с использованием критериев непараметрической

статистики: Манна-Уитни (U), Вальда-Вольфовица (WW), непараметрического критерия Wilcoxon для связанных выборок. Применялись только односторонние критерии, различия считали значимыми при $P < 0,05$. Для обработки результатов исследования использован пакет прикладных программ Statistica 6.0 for Windows.

Результаты. Сравнительное изучение динамики иммунологических показателей сыворотки крови в обеих группах пациентов с ПРГ в раннем посттравматическом периоде выявило динамику изменений, которая представлена в таблице 1. Из данных таблицы 1 видно, что через 10 суток после травмы ста-

тистически достоверно в 1 группе снижалось почти в 3 раза абсолютное число В2- и В-активированных лимфоцитов, суммы В-клеток (в 2,5 раза); относительное количество В1-лимфоцитов не изменялось. В то время, как во 2 группе наблюдались противоположные, статистически значимые изменения: увеличивалось абсолютное число В2- и суммы В-лимфоцитов, абсолютное число В-активированных клеток не изменялось, относительное количество В1-лимфоцитов снижалось.

В отношении динамики Т-лимфоцитов также наблюдались противоположные изменения. В 1 группе относительное число $CD4^+ CD127^+ CD25^-$ и Т-активированных лимфо-

Таблица 1. Динамика показателей В и Т – лимфоцитов в раннем посттравматическом периоде при ПРГ

Показатель	M±m	Исследуемые группы			
		Группа 1 (n = 20)		Группа 2 (n = 18)	
		2-3 сутки	10 сутки	2-3 сутки	10 сутки
В2-лимфоциты ($CD5^+CD19^+$) отн.	M±m	22,20±1,36	19,20±1,42	23,77 ±0,48	22,36± 0,35
В2-лимфоциты ($CD5^+CD19^+$) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	723,00±63,5	215,00±23,7 <0,05	499,69±29,38	615,98±22,16 <0,05
В1-лимфоциты ($CD5^+CD19^+$) отн.	M±m	2,50±0,12	2,85±0,14	1,98±0,21	1,17±0,12 <0,05
В1-лимфоциты ($CD5^+CD19^+$) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	49,0±2,01	32,00±3,14 <0,05	40,03±4,51	31,7±2,98
В-лимфоциты активированные ($CD20^+CD23^+$) отн.	M±m p1	8,90±1,21	4,90±0,53 <0,05	7,12±0,17	4,99±0,17 <0,05
В-лимфоциты активированные ($CD20^+CD23^+$) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	153,00±18,6	55,00±7,31 <0,05	147,7±6,91	136,72±5,09
Сумма В клеток (В1 и В2) отн.	M±m	24,70±2,31	22,05±2,23	24,57±0,49	23,5±0,31
Сумма В клеток (В1 и В2) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	672,00±93,6	247,00±26,31 <0,05	539,64±21,07	647,88±21,34 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^+CD25^-$) отн.	M±m	93,05±2,64	93,73±2,83	83,11±0,47	86,6±0,96 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^+CD25^-$) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	2485,60±190,2	1499,75±138,2 <0,05	1736,70±84,67	2167,30±111,68 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^+CD25^+$) отн.	M±m p1	1,72±0,16	1,29±0,14	1,03±0,03	1,79±0,12 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^+CD25^+$) абс. ($\times 10^6$ / мл)	M±m p1	37,77±4,57	16,62±2,18 <0,05	21,35±1,05	46,47±5,10 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^-CD25^+$) отн.	M±m p1	7,30±1,18	4,89±0,44 <0,05	3,23±0,07	5,18±0,22 <0,05
Лимфоциты ($CD4^+CD127^-CD25^+$) абс. ($\times 10^9$ / мл)	M±m p1	160,28±9,90	59,28±8,63 <0,05	117,07±3,14	127,87±5,71

Примечание: $p < 0,05$ по отношению динамики в каждой группе

цитов не менялось, а абсолютное – снижалось; относительное и абсолютное количество Т-регуляторных клеток – снижалось ($p < 0,05$). У пациентов 2 группы имело место статистически значимое увеличение всех этих показателей, за исключением абсолютных значений Т-регуляторных клеток, которые не изменялись.

Динамика клинических симптомов воспаления при сравнительном анализе данных 2-х групп представлена в таблице 2.

Анализ данных таблицы 2 показал разницу динамики симптомов воспаления у пациентов исследуемых групп. Изначально, спустя 2-3 суток после ранения воспаление в обеих группах было одинаково выраженным – на каждого больного приходилось не менее 6 воспалительных симптомов (6,1 – в 1-й группе, 6,4 – во 2-й группе). Через 14 суток после травмы в 1-й группе имело место сохранение 74,6% симптомов воспаления, а у больных 2-й группы, получавших иммуномодулятор Бестим симптомов воспаления оставалось в 2 раза меньше – 31,3%, $p < 0,05$. Спустя 30 суток после травмы почти треть первоначальных симптомов еще сохранялась в 1-й группе – 34,4%, в то время как во 2-й группе их число

было статистически значимо меньше – 13,0%, $p < 0,05$. Выраженность посттравматического воспаления в 1-й группе с базовым лечением через 14 и 30 суток была больше, что доказывало число воспалительных симптомов на 1 пациента, превышающее показатели 2-й группы в 1,2 раза и 1,3 раза соответственно. Через 14 суток после ранения только во 2-й группе наблюдалось выздоровление – у 6 (30%) пациентов, $p < 0,05$. Спустя 30 суток процент выздоровления во 2-й группе (66,7%) статистически значимо превышал (в 1,9 раза – 35%) показатель 1-й группы, $p < 0,05$.

Все выше доказанное свидетельствовало о повышении клинической эффективности базового лечения ПРГ с включением иммуномодулирующей терапии.

Выводы:

1. Включение в базисную терапию ПРГ иммунокорректирующего препарата Бестим влияло на показатели системного иммунитета и улучшало клиническое течение посттравматического периода у пациентов с проникающими ранениями глаз тяжелой степени.

2. В сыворотке крови к 10-м суткам после ранения установлено увеличение абсолютного

Таблица 2. Динамика симптомов посттравматического раневого воспаления при ПРГ

Клинические признаки группы	Группы					
	1 группа – базовое лечение (n = 20)			2 группа – базовое лечение +Бестим (n = 18)		
Срок после травмы (сутки)	2	14	30	2	7	30
	абс.					
Слезотечение	20	14	1	17	5	1
Светобоязнь	20	6	4	17	6	1
Цилиарная болезненность	12	7	5	14	4	2
Перикорнеальная инъекция	20	20	11	18	6	6
Отек эндотелия	7	3	2	8	3	-
Преципитаты	0	0	0	0	0	0
Отек, гиперемия радужки	17	9	7	14	5	1
Фибрин в передней камере	9	5	-	10	2	-
Задние синехии	17	13	12	17	5	4
Количество больных, симптомов воспаления всего и на 1 больного						
Итого симптомов: М –%	122-100,0	91-74,6	42-34,4	115-100,0	36-31,3*	15-13,0*
Симптомов на 1 больного:	6,1	4,6	3,2	6,4	3,0	2,5
Больных (чел.) М-%	20-100,0	20-100,0	13-65,0	18-100,0	12-66,7*	6-33,3*
Выздоровление (чел.) М –%	0-0,0	0-0,0	7-35,0	0-0,0	6-30,0*	12-66,7*

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению групп

числа В 2- и суммы В-лимфоцитов, абсолютного числа CD4⁺CD127⁺CD25⁻ и Т-активированных лимфоцитов, снижение относительного количества В1-лимфоцитов и отсутствие падения уровня Т-регуляторных клеток у этих пациентов.

3. Улучшение течения посттравматического периода заключалось в снижении числа воспалительных симптомов к 14-м и 30-м суткам (до 31,3% и 13,0% соответственно) и увеличении частоты выздоровления к 30-м суткам после ранения (66,7%).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архипова Л. Т. Симпатическая офтальмия / Л. Т. Архипова – М., 2006. – 247 с.
2. Гаврилова Т. В. Иммунокорректирующие эффекты миелопептидов при экспериментальном проникающем ранении глаза / Т. В. Гаврилова, С. В. Гейн – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 101 с.
3. Гундорова Р. А. Структура глазного травматизма на современном этапе / Р. А. Гундорова, О. И. Кваша, Р. А. Нурмамедов // Оказание первой и специализированной помощи при травмах органа зрения в экстремальных ситуациях и катастрофах: Тез. докл. науч.– практ. конф.– Москва, 2006. – С. 136-137.
4. Гундорова Р. А. Структура глазного травматизма / Р. А. Гундорова, Н. И. Капелюшникова // Новые технологии в пластической хирургии придаточного аппарата при травмах глаза и орбиты в условиях чрезвычайных ситуаций и катастроф: Тез. докл. науч.– практ. конф.– Москва, 2007. – С. 152-154.
5. Черешнева М. В. Иммунокоррекция при ранении глаза / М. В. Черешнева, Ю. И. Шилов, О. Н. Баданина, В. А. Черешнев, Н. Н. Кеворков, Т. Б. Пономарева, С. Ю. Шилов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2001. – 146 с.

THE INDICES OF IMMUNITY AND THE CLINICAL COURSE OF POSTTRAUMATIC PERIOD IN PATIENTS WITH PENETRATING WOUNDS OF THE EYEBALL WHEN INCLUDED IN A COMPREHENSIVE TREATMENT OF THE DRUG BESTIM

Maracheva N. M.¹, Marachev S. I.²

¹Regional clinical hospital № 3; ²Federal State Budgetary Institution of Education of the Ministry of Health of Russia «South Ural State Medical University», Chelyabinsk, Russia

We conducted a study of indicators of systemic immunity and the clinical course of post-traumatic period in 38 patients with penetrating wounds of the eyeball severe. In the first group 20 patients received pathogenetic basic treatment, in the second group 18 patients in the standard treatment included intramuscular injection of immunomodulator Bestim 100 mcg daily for 5 days, starting 3 days after the injury. We studied subpopulation composition of lymphocytes in the blood serum on 2-3 and 10 days after injury, the timing of the relief of the inflammatory symptoms, the clinical course of posttraumatic period at 14 and 30 days after injury. It was established that the inclusion of the immunomodulator Bestim in the basic treatment of the PWYB led to the increase in the absolute number of B2- and the amount of B-lymphocytes, the absolute number of CD4⁺CD127⁺CD25⁻ and T-activated lymphocytes, a decrease in the relative number of B1-lymphocytes and lack of fall of the level of T-regulatory cells, which have a positive impact on the clinical course of posttraumatic period in patients of the 2nd group: in 14-th and 30-th day it has increased frequency of relief of inflammatory symptoms as in the group as a whole as per patient and per recovery by 1 month after injury.

Key words: a penetrating wound of the eye, Bestim, running cytofluorimetry, subpopulation composition of lymphocytes, the clinical