

На правах рукописи

Уханова Ирина Юрьевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ
МАКРОФАГОВ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2011

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАМН **Караулов Александр Викторович**

кандидат медицинских наук **Локтионов Алексей Леонидович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ **Афанасьев Станислав Степанович**

доктор биологических наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ **Арион Виталий Яковлевич**

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Защита состоится «_____» _____ 2011 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.02 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации по адресу: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, г. Москва.

Автореферат разослан «_____» _____ 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.м.н.

Л.И. Новикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время взгляды на патогенетические особенности многих хирургических заболеваний, в том числе острого панкреатита (ОП), претерпели существенные изменения (Винник Ю.С., 2006, 2009; Савельев В.С., 2007). Если до 1992 года основной причиной развития ОП считали протоковую гипертензию с забросом желчи в главный панкреатический проток, следствием которой были активация ферментов поджелудочной железы (ПЖ) и развитие ОП, что вписывалось в рамки теории общего канала (Ople E.L., 1901), то в современной медицине патогенез ОП принято рассматривать с позиции синдрома системной воспалительной реакции (Савельев В.С., 2000, 2007; Bone R.C., 1997; Root R.K., 1999).

Воспалительная реакция, возникающая при большинстве патологических состояний, является унифицированной для всего организма в целом, а ее обеспечение и поддержание происходит за счет клеток лимфоцитов, моноцитов/макрофагов, нейтрофилов и во многом зависит от их функционального состояния (Тарасенко В.С., 2000; Трухан А.Д., 2000). Известно, что ключевой клеткой, инициатором воспаления, играющей значительную роль в развитии врожденных и адаптивных форм иммунного ответа, процессах репаративной регенерации при ОП, является система моноцитов/макрофагов, основная функция которой не только фагоцитоз, но и продукция большого числа биологически активных соединений (Караулов А.В., 2008; Хаитов Р.М., 2009; Ярилин А.А., 2010). В ряде клинико-экспериментальных работ активно обсуждается роль нарушений функциональной активности нейтрофилов при ОП (Анишева Т.Н., 2005; Локтионов А.Л., 2006; Пехов Д.А., 2006), но эти клетки выполняют эффекторные функции, так как они узкоспециализированны и не являются регуляторами иммунного ответа. Кроме того, системные нарушения иммунитета и функции иммунокомпетентных клеток зачастую не отражают патологических изменений, протекающих локально (Шабанов В.В., 2003; Земсков А.М., 2008). Немаловажен и тот факт, что выраженное супрессирующее влияние на формирование системного иммунитета оказывают фармакологические препараты, используемые в составе традиционной фармакотерапии, особенно химиотерапевтические антибактериальные средства (Лазарев А.И., 1998; Хмелевская Ю.В., 2002; Прокопенко Л.Г., 2004; Чуева Т.В., 2005). В то же время данных о влиянии этих препаратов на факторы местного иммунитета прак-

тически нет. Все эти факты и обуславливают повышенный интерес исследователей к функции одной из ключевых клеток в регуляции иммунитета – системе моноцитов/макрофагов и, в частности, к функции перитонеальных макрофагов при ОП.

Цель – установить нарушения функциональной активности перитонеальных макрофагов в зависимости от тяжести течения острого панкреатита.

Задачи:

1. Оценить фагоцитарную, кислородзависимую и кислороднезависимую активность перитонеальных макрофагов в зависимости от тяжести острого панкреатита.

2. Изучить спонтанную и стимулированную способность перитонеальных макрофагов к продукции цитокинов *in vitro* при легком и тяжелом течении острого панкреатита.

3. Выявить состояние процессов перекисного окисления липидов на местном уровне (в брюшной полости) и антиоксидантную активность перитонеальных макрофагов.

4. Провести оценку корректирующих эффектов традиционной фармакотерапии на фагоцитарную, кислородзависимую, кислороднезависимую активность, спонтанную и стимулированную цитокинпродуцирующую способность перитонеальных макрофагов, оксидантные показатели в зависимости от тяжести течения острого панкреатита.

5. Установить показатели функциональной активности перитонеальных макрофагов, позволяющие оценить тяжесть течения и эффективность традиционного лечения острого панкреатита.

Научная новизна. Впервые установлены различия функциональной активности перитонеальных макрофагов в зависимости от тяжести острого панкреатита. Выявлено снижение фагоцитарной и повышение метаболической активности перитонеальных макрофагов при легком и снижение этих показателей при тяжелом течении заболевания. Установлено значительное повышение спонтанной и стимулированной способности перитонеальных макрофагов к продукции про- и противовоспалительных цитокинов, иммунорегуляторного ИЛ-2, ИФ α , ИФ γ , рецепторного антагониста к ИЛ-1 β , процессов перекисного окисления липидов, активности каталазы и супероксиддисмутазы, снижение концентрации стабильных метаболитов оксида азота при тяжелом, по сравнению с легким течением острого панкреатита. Традиционная фармакоте-

рапия частично нормализует нарушения функциональной активности перитонеальных макрофагов при легком, в меньшей степени при тяжелом остром панкреатите.

Практическая значимость. Обоснована необходимость коррекции функциональной активности перитонеальных макрофагов, особенно при тяжелом остром панкреатите. Выявленные различия функциональной активности перитонеальных макрофагов позволяют судить о степени тяжести патологического процесса при остром панкреатите. Определены лабораторные показатели, имеющие наибольшее диагностическое значение в оценке тяжести течения и эффективности проводимого лечения при данной патологии.

Разработанные рекомендации внедрены в работу МУЗ ГБ № 4 г. Курска и ГУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа».

Материалы диссертации вошли в учебные рабочие программы и используются в лекционных курсах и на практических занятиях кафедр Российского, Курского, Самарского, Волгоградского государственных медицинских университетов и Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Установлены характер и направленность изменения функционально-метаболической активности перитонеальных макрофагов у лиц с легким и тяжелым острым панкреатитом.

2. Выявлено снижение фагоцитарной и повышение метаболической активности перитонеальных макрофагов при легком и снижение этих показателей при тяжелом течении заболевания.

3. Обоснована необходимость коррекции функциональной активности перитонеальных макрофагов, в особенности при тяжелых формах острого панкреатита.

4. Определены наиболее информативные показатели функциональной активности перитонеальных макрофагов при остром панкреатите, позволяющие прогнозировать тяжесть течения и оценивать эффективность лечения заболевания.

Апробация работы. Апробация работы проведена на совместном заседании кафедр клинической иммунологии и аллергологии, микробиологии, биохимии, фармакологии, хирургических болезней № 2 Курского государственного медицинского университета (2010).

Основные положения диссертации представлены на научных конференциях Курского государственного медицинского университета: III Всероссийской конференции молодых ученых, организованной Воронежской государственной академией им. Н.Н. Бурденко и Курским государственным медицинским университетом (2009), IV Международной научной конференции молодых ученых-медиков (2010), Международной конференции физиологии и патологии иммунной системы, IV Международной конференции по иммунотерапии (Москва, 2008), VII съезде аллергологов и иммунологов СНГ (Москва, 2009), XVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2009), X Международном конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Москва, 2009), XIV Международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Израиль, Тель-Авив, 2009), XV Международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (ОАЭ, Дубай, 2010).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 работ в центральной и местной печати, в том числе 9 в изданиях, рекомендованных ВАК для публикаций материалов докторских и кандидатских диссертаций.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 111 стр. машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами и 12 рисунками, состоит из введения, обзора литературы (2 главы), описания методов исследования, изложения собственных результатов (3 главы), заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 100 отечественных и 81 иностранный источник.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Материалом для исследований служил экссудат, отделяемый из брюшной полости сразу после постановки дренажей и перед их удалением на фоне традиционной фармакотерапии 91 пациента с ОП, находившихся на лечении в хирургическом отделении МУЗ ГKB № 4 г. Курска с 2007 по 2009 г. Средний возраст пациентов составлял $37,5 \pm 3,1$ года. Критериями включения в исследование были: возраст от 24 до 50 лет, верифицированный диагноз ОП, лица, поступающие в стационар впервые и не подвергавшиеся ранее оперативному вмешательству, общее состояние не выше тяжелого, наличие сопутствующей патологии в стадии ремиссии, письменное информированное согласие на участие в проводимых исследованиях. Рандомизация больных с ОП

проводилась по полу, возрасту, способу лечения, сопутствующей патологии, длительности и этиологии заболевания. Традиционная фармакотерапия включала инфузионную терапию со спазмолитиками и анальгетиками; антиферментные препараты – гордокс, контрикал; антибактериальную терапию препаратами широкого спектра действия, антисекреторную терапию. Дренажи в брюшную полость устанавливались сразу же при поступлении в стационар и обнаружении ферментативного перитонита, а удалялись в среднем на 7-й день, когда дебет отделяемой жидкости уменьшался до 50 мл.

В качестве контроля использовали перитонеальные макрофаги (ПМ), выделенные из брюшной полости у 15 пациентов, не страдавших ОП или онкологической патологией, поступавших в приемное отделение клиники с подозрением на травму органов брюшной полости. Всем больным контрольной группы с диагностической целью выполнялся лапароцентез с методикой «шарящего катетера», в брюшную полость вводился изотонический раствор хлорида натрия, который затем аспирировался. Если получаемые промывные воды не имели геморрагического оттенка, они подвергались дальнейшему исследованию.

Лабораторные методы выделения перитонеальных макрофагов. Из множества методов выделения ПМ в работе применялись следующие: на фикоколл-верографине, фикоколл-урографине и желатине. Следует отметить, что методы выделения ПМ из перитонеальной жидкости и периферической крови практически идентичны. В то же время существуют некоторые сложности. При выделении на желатине высок процент цитолиза и низкий уровень выхода клеточной взвеси, составляющий порядка 30%. Более предпочтительно использование градиентов фикоколл-урографина или фикоколл-верографина, так как выход клеточной взвеси составил порядка 60%.

Для перитонеальной жидкости в качестве антикоагулянта необходимо использование оксалата натрия или калия для предотвращения перехода клеток в формирующийся со временем муцинозно-фибринозный сгусток.

Перитонеальную жидкость собирали в специально заготовленные стерильные флаконы объемом 400 мл. Во избежание процессов цитолиза и бактериального обсеменения перитонеальную жидкость разводили в течение 1-1,5 часа раствором Хенкса (без солей) в отношении 1:1 или 1:2. В стеклянную пробирку наливали по 3 мл раствора фикоколл-верографина (плотность 1,077 г/см³). С помощью пастеровской пипетки или шприца с длинной иглой разведенную жидкость в количестве 8 мл осторожно наслаивали на стенки про-

бирки на раствор фиколл-верографина. Далее пробирки центрифугировали при 400 g/МНН 30 минут. После центрифугирования из белесоватого кольца, образовавшегося на границе раздела смеси фиколл-верографина и перитонеальной жидкости, пастеровской пипеткой отбирали взвесь клеток, ресуспендировали в среде 199 и производили подсчет в камере Горяева. Полученную клеточную взвесь переносили на пластиковые чашки Петри и инкубировали в среде 5% CO₂ в термостате при температуре 37°C 60 минут, добавив 100 мл среды RPMI-1640. После отмывания от остатков эритроцитов производили изучение свойств выделенных макрофагов.

Исследование адгезионных свойств перитонеальных макрофагов.

Выделенные макрофаги доводили до концентрации $5 \cdot 10^9$ /мл средой 199 с 10% сывороткой АВ (IV) группы. В две стерильные пластиковые чашки Петри вносили по 100 мкл клеточной взвеси, затем в одну из них (контрольную) вносили 100 мкл антигена (сыворотки крупного рогатого скота). Инкубировали 30 мин при температуре 37°C. На обезжиренное прогретое стекло восковыми мелками наносили квадраты площадью 1 см². На контрольное стекло наносили 20 мкл взвеси из контрольной чашки. Стекла инкубировали во влажной камере 60 минут при 37°C, после чего, при помощи методики висячей капли (стекла 20 мин находились в перевернутом состоянии) и удаления стряхиванием, прикрепившиеся клетки (макрофаги) промывали 50 мкл среды 199, стекла высушивали и красили красителем «Лейкодифф» (Лахема) 3-5 минут.

Подсчет % прилипания проводили по следующей формуле: 1 мл содержит $5 \cdot 10^9$ клеток; 10 мкл, соответственно, 5000 клеток.

$\% \text{ прилипания} = \text{количество прилипших клеток} / 5000 \times 100\%$.

Сравнивали % прилипания без обработки антигеном и после обработки им.

Оценка фагоцитарной и кислородзависимой активности макрофагов.

100 мкл клеточной взвеси помещали на тщательно вымытое и обезжиренное стекло. Его выдерживали во влажной камере при 37°C 45 минут, затем наносили расчетную дозу латекса или суточной культуры E.coli или S.album и снова помещали во влажную камеру при 37°C на 30 мин. После инкубации стекло промывали в растворе Хенкса для удаления непоглощенных частиц и высушивали. Высушенный препарат фиксировали и красили по Романовскому-Гимзе. Учет фагоцитарной активности проводили, определяя фагоцитарный показатель – процент макрофагов с фагоцитированным материалом, фагоцитарное

число – среднее число частиц, поглощенных одним макрофагом, и индекс активности фагоцитоза. В каждом препарате подсчитывали не менее 200 клеток.

Кислородзависимую активность оценивали по НСТ-тестам - спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан, коэффициенту опсонизации (КАн, КАо, КО) (Зинкин В.Ю., Годков В.Г., 2004).

Оценка кислороднезависимых механизмов цитотоксичности макрофагов. Активность кислороднезависимых механизмов цитотоксичности ПМ определяли после гиперосмотического лизиса клеток, измеряя концентрацию миелопероксидазы (МП) и лактоферрина (ЛФ) методом иммуноферментного анализа с использованием иммуноферментного анализатора «Текан» (Австрия) наборами фирмы «Вектор Бест» (Россия).

Определение цитокинпродуцирующей способности макрофагов. Концентрацию провоспалительных (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов, ИЛ-2, рецепторного антагониста к ИЛ-1 β , С₃- и С₄-компонентов комплемента определяли с помощью иммуноферментного анализатора «Текан» (Австрия) наборами фирмы ЗАО «Вектор Бест» (Россия). Оптическую плотность определяли при длине волны 450 нм, расчет концентрации производили с использованием стандартных калибровочных растворов по автоматически построенной калибровочной кривой.

После выделения ПМ проводили стандартизацию, переводом их в определенные объемы 20% раствора сыворотки крупного рогатого скота, до достижения концентрации $5 \cdot 10^6$ /мл клеток, которая дает оптимальное соотношение индуктор/клетка (20:1) для проявления у ПМ максимального уровня дискретности в ответ на стимуляцию (Зинкин В.Ю., Годков М.А., 2004). Для определения способности ПМ к спонтанной и стимулированной продукции цитокинов взвесь ПМ в концентрации $5 \cdot 10^6$ /мл делили на две части и инкубировали в течение 1,5 часа в сывороточной среде RPMI-1640 при 37°C в анаэробных условиях (в среде 5% CO₂), причем в одну из частей с целью стимуляции добавляли 50 мкл зимозана. По окончании инкубации ПМ в планшетах трижды отмывали средой 199, ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 в объеме 100 мкл и продолжали культивировать в анаэробных условиях (среде 5% CO₂) в течение 18 часов. Для исследования брали супернатанты клеток, полученные путем

10-минутного центрифугирования культуральной смеси при 500 об/мин (Анцупова В.С. и др., 2006).

Уровни концентраций цитокинов в полученном материале отражали текущее состояние иммунной системы, тогда как в ситуациях, сопряженных с дефицитом или дисбалансом регуляторных факторов, необходимо оценить способность перитонеальных макрофагов к секреции цитокинов. При этом спонтанная продукция свидетельствовала о том, насколько клетки уже активированы *in vivo*, стимулированная – позволяла оценить потенциальный резерв к секреции цитокинов.

Изучение процессов перекисного окисления липидов и системы внутриклеточных антиоксидантов перитонеальных макрофагов. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов оценивали по содержанию ацилгидроперекисей и малонового диальдегида в жидкости, полученной после инкубации выделенных перитонеальных макрофагов (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977). Кроме этого, определяли активность каталазы (Королюк М.А. и др., 1988) и супероксиддисмутазы (Костюк В.А. и др., 1990) в супернатантах, полученных после гиперосмотического лизиса клеточной взвеси перитонеальных макрофагов.

Стабильные метаболиты оксида азота в инкубационной жидкости определяли спектрофотометрически с помощью реактива Грисса при длине волны 540 нм. Концентрацию рассчитывали, используя калибровочную кривую, в качестве калибраторов использовали растворы натрия нитрита в концентрации от 1,0 до 6,0 мкмоль/мл (Голиков П.П. и др., 2003).

Статистическая обработка материала. Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы: критерии Вилкоксона-Манна и Уитни, а также коэффициент ранговой корреляции Спирмена (Гублер Е.Г., Генкин А.Р., 1973). Для редукации количества данных был проведен факторный анализ (Harman, 1976). Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Состояние функциональной активности перитонеальных макрофагов при легком течении острого панкреатита. При поступлении в стационар больных с легким течением ОП, после дренирования брюшной полости было установлено повышение адгезивных свойств ПМ по сравнению с контроль-

ной группой, так как процент прилипающих клеток составил $72,3 \pm 3,2$, где показатель не превышал $65,7 \pm 5,3$.

Сразу же после дренирования, в большей степени перед удалением дренажей, обнаружено снижение фагоцитарной и повышение кислородзависимой активности ПМ в ответ на стимуляцию неопсонизированным и опсонизированным зимозаном. При этом коэффициенты метаболической активности ПМ (КАн, КАо и КО) были повышенными как в первые сутки после дренирования, так и перед удалением дренажных систем (табл. 1).

Повышение кислородзависимого метаболизма ПМ, вероятно, обусловлено неспецифической реакцией клеток на воспаление, а снижение фагоцитарной активности некоторые авторы объясняют изменением рН среды: состояние метаболического ацидоза, возникающее при выраженной воспалительной реакции, сопровождается нарушением функционирования микротрубочек клеток, процесса слияния фагосомы и лизосомы и снижением активности щелочной фосфатазы (Черешнев В.А., 2002).

Таблица 1

Состояние функциональной и метаболической активности перитонеальных макрофагов при легком течении острого панкреатита

| Показатели | Единицы измерения | 1 | 2 | 3 |
|------------------|-------------------|--------------------|------------------------------|--------------------------|
| | | Контрольная группа | Больные с легким течением ОП | |
| | | | Сразу после дренирования | Перед удалением дренажей |
| ФП | % | $49,7 \pm 2,4$ | $25,5 \pm 1,3^{*1}$ | $32,2 \pm 1,3^{*1,2}$ |
| ФЧ | абс. | $9,2 \pm 1,4$ | $4,5 \pm 1,1^{*1}$ | $5,4 \pm 1,4^{*1}$ |
| ИАФ | — | $4,5 \pm 0,9$ | $1,1 \pm 0,5^{*1}$ | $1,7 \pm 0,3^{*1,2}$ |
| НСТ-сп. | mOD | $0,17 \pm 0,03$ | $0,27 \pm 0,01^{*1}$ | $0,40 \pm 0,04^{*1,2}$ |
| НСТ-ст. (н/з) | mOD | $0,68 \pm 0,02$ | $1,18 \pm 0,02^{*1}$ | $1,80 \pm 0,01^{*1,2}$ |
| НСТ-ст. (о/з) | mOD | $0,91 \pm 0,01$ | $2,27 \pm 0,03^{*1}$ | $3,33 \pm 0,01^{*1,2}$ |
| КАн | — | $4,0 \pm 0,3$ | $4,3 \pm 0,02^{*1}$ | $4,5 \pm 0,06^{*1}$ |
| КАо | — | $5,4 \pm 1,8$ | $8,4 \pm 0,01^{*1}$ | $8,3 \pm 0,08^{*1}$ |
| КО | — | $1,3 \pm 0,5$ | $1,9 \pm 0,12^{*1}$ | $1,85 \pm 0,12^{*1}$ |
| МП | усл. ед | $90,1 \pm 2,2$ | $110,5 \pm 1,7^{*1}$ | $141,1 \pm 3,3^{*1,2}$ |
| ЛФ | усл. ед | $52,2 \pm 2,3$ | $145,9 \pm 4,02^{*1}$ | $259,1 \pm 22,5^{*1,2}$ |
| МДА | мкмоль/л | $0,4 \pm 0,03$ | $1,65 \pm 0,07^{*1}$ | $0,91 \pm 0,16^{*1,2}$ |
| АГП | усл. ед. | $0,05 \pm 0,01$ | $0,35 \pm 0,01^{*1}$ | $0,16 \pm 0,74^{*1,2}$ |
| Каталаза | мкат/л | $2,4 \pm 0,2$ | $3,60 \pm 0,16^{*1}$ | $4,58 \pm 0,21^{*1,2}$ |
| СОД | УЕ/мл | $1,2 \pm 0,02$ | $3,81 \pm 0,1^{*1}$ | $3,42 \pm 0,20^{*1}$ |
| СМ _{NO} | мкмоль/л | $3,5 \pm 0,1$ | $4,18 \pm 0,15^{*1}$ | $7,96 \pm 0,49^{*1,2}$ |

Примечание. Здесь и в последующих таблицах * - $p < 0,05$, цифра рядом со звездочкой указывает на группу, по отношению к которой отличие достоверно.

Одной из основных особенностей макрофагов, косвенно указывающей на их происхождение от полипотентной стволовой клетки, единой для гранулоци-

тов и макрофагов, является наличие гранул – лизосом диаметром 0,25-0,5 мкм, в которых содержатся ферменты: кислые гидролазы, кислая фосфатаза, α -нафтилэстераза, кислая и другие эстеразы, кислая РНКаза, липаза, катепсины, эластаза, лизоцим, миелопероксидаза, коллагеназа, а также катионные белки. Известно, что даже в анаэробных условиях, т.е. когда в клетках нет возможности образовать активные формы кислорода, фагоциты способны убивать эпидермальный стафилококк, синегнойную палочку, зеленающий стрептококк и другие микробы благодаря наличию таких ферментов, как МП и ЛФ (Тотоян А.Д., 2000). У больных с легким течением ОП сразу после дренирования, в большей степени перед удалением дренажей, установлено повышение активности кислороднезависимых механизмов цитотоксичности в супернатантах, полученных при гиперосмотическом лизисе ПМ (табл. 1).

Таким образом, можно предположить, что повышение кислороднезависимой цитотоксичности ПМ обусловлено адаптивной реакцией организма, направленной на предупреждение инфицирования очагов панкреатической деструкции за счет транслокации бактерий через стенку толстой кишки. Кроме того, учитывая описанные ранее механизмы, возможно, повышение активности лактоферрина является проявлением компенсаторной противовоспалительной реакции, реализуемой через торможение формирования C_3 -конвертазы в очаге воспаления и, следовательно, прекращение активации системы комплемента.

Известно, что в макрофагах и нейтрофилах имеется iNOS, которая является кальций-независимой и при ее активации происходит повышение уровня оксида азота в 1000 раз большее, чем продуцируемое другими видами NO-синтаз. Индуцирующими агентами для активации этого фермента являются эндотоксин, ИФ γ , ИЛ-1 и ФНО α . Клинически наблюдается вазодилатация, усиливается сосудистая проницаемость, формируется отек и последующее развитие воспалительной реакции (Голиков П.П., Голиков А.П., 2008). Патогенетический механизм участия NO в окислительном стрессе характеризуется снижением уровня АТФ, повышением содержания гипоксантина, превращением ксантиндегидрогеназы в образующую прооксиданты ксантиноксидазу. Эта оксидантная среда генерирует перекиси липидов, которые увеличивают проницаемость для кальция и активируют фосфолипазу A_2 , играющую значительную патогенетическую роль в развитии ОП (Конопля А.И., 2008).

У больных с легким течением ОП было обнаружено на момент начала лечения повышение уровня как промежуточных, так и конечных продуктов пере-

кисного окисления липидов, активности каталазы и СОД, концентрации SM_{NO} . При проведении традиционной фармакотерапии отмечались корректирующие эффекты на содержание МДА и АГП, но в еще большей степени наблюдалось, вероятно компенсаторное, повышение активности каталазы и концентрации SM_{NO} (табл. 1).

В современной литературе уделяется большое внимание изучению уровня цитокинов при различных патологиях. Провоспалительные цитокины, продуцируемые каскадом, рекрутируют в очаг воспаления нейтрофилы, макрофаги, стимулируют фагоцитарную и бактерицидную активность этих клеток, индуцируют формирование различных форм иммунного ответа. Противовоспалительные цитокины контролируют воспалительную реакцию и противостоят ее чрезмерному развитию. Однако так идеально происходит не всегда, и чрезмерное изменение их содержания в ту или другую сторону может стать пусковым моментом для развития недостаточности органов, систем и полиорганных нарушений (Караулов А.В. и др., 2002; Хаитов Р.М., 2009). Известно, что одними из клеток, продуцирующих большой спектр цитокинов, является система моноцитов/макрофагов, выполняющая тем самым регуляторные функции как в отношении врожденного, так и в отношении адаптивных форм иммунного ответа. Кроме того, в современной литературе имеются сведения о способности макрофагов продуцировать в небольших концентрациях отдельные компоненты системы комплемента (Nebe T., 2002).

При поступлении в клинику у больных с легким течением ОП в инкубационной жидкости ПМ, без и после их стимуляции, отмечалось повышение уровня про- и противовоспалительных цитокинов, ИЛ-1 Ra и C_4 -компонента комплемента. Содержание C_3 -компонента оставалось на уровне контрольной группы. Перед удалением дренажей в инкубационной среде ПМ, как не стимулированных, так и после стимуляции, наблюдалась нормализация концентрации ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИФ α , снижение, но не до контрольных показателей, ИЛ-2, ИЛ-6, ИФ γ , C_4 -компонента комплемента и еще большее повышение уровня ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-1 Ra. Продуцирующая способность в отношении C_3 -компонента комплемента после проведенной терапии не изменялась (рис. 1).

Таким образом, изменения цитокинпродуцирующей активности ПМ после традиционной фармакотерапии косвенно указывают на ее выраженную противовоспалительную направленность.

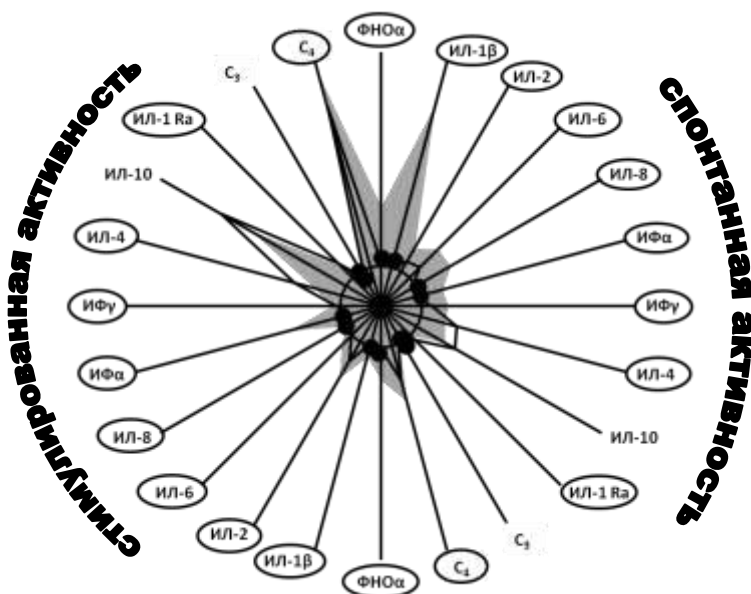


Рис. 1. Изменение спонтанной и стимулированной цитокинпродуцирующей способности ПМ у больных с легким течением ОП.

Обозначения: 1 – радиус окружности – показатели здоровых доноров;

2 –  – показатели больных с легким течением ОП сразу после дренирования;

3 –  – показатели больных с легким течением ОП перед удалением дренажа;

4 –  – $p > 0,05$ по отношению к контрольной группе;

5 –  – $p < 0,05$ 3-й группы по отношению ко 2-й группе.

Таким образом, у больных с легким течением острого панкреатита наблюдалось повышение кислородзависимых и кислороднезависимых механизмов цитотоксичности на фоне недостаточности фагоцитарной и дисбаланса цитокинпродуцирующей активности клеток. Вероятно, эти изменения функциональной активности перитонеальных макрофагов у больных с легким течением острого панкреатита и обуславливают возможность развития парапанкреатического инфильтрата, но постепенное купирование воспаления препятствует развитию гнойно-септических осложнений панкреонекроза.

Изменение функциональной активности перитонеальных макрофагов у больных с тяжелым течением острого панкреатита. Известно, что тяжелый ОП характеризуется большим числом осложнений, в том числе и гнойных. В связи с этим следующим этапом работы стало изучение функциональной активности ПМ при тяжелом течении ОП.

При исследовании адгезивных свойств ПМ у больных с тяжелым течением ОП установлено снижение процента прилипающих клеток до $32,3 \pm 3,2$ по сравнению с контрольной группой, где показатель был равен $65,7 \pm 5,3$, что косвенно может указывать на уменьшение пластичности мембраны клетки и количества рецепторов на ее поверхности. Кроме того, установлено снижение пока-

зателей функциональной и ферментативной активности ПМ как сразу после дренирования, так и перед удалением дренажей, при этом различий между уровнем активности ПМ в эти временные промежутки не было (табл. 2).

Определение параметров метаболической активности ПМ на момент поступления в клинику и перед удалением дренажей на фоне традиционной фармакотерапии обнаружило повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов, активности каталазы и СОД, но снижение содержания SM_{NO} (табл. 2). Вероятно, снижение уровня SM_{NO} является отрицательным моментом, поскольку NO – это мощный вазодилатирующий медиатор, а при снижении его содержания наблюдается вазоконстрикция, что приводит к нарушению микроциркуляции, микротромбозам, следствием чего будет локальная гипоксия тканей, которая негативно сказывается на процессах репаративной регенерации.

Таблица 2

Состояние функциональной и метаболической активности перитонеальных макрофагов при тяжелом течении острого панкреатита

| Показатели | Единицы измерения | 1 | 2 | 3 |
|---------------|-------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------------|
| | | Контрольная группа | Больные с тяжелым течением ОП | |
| | | | Сразу после дренирования | Перед удалением дренажей |
| ФП | % | 49,7±2,4 | 23,1±1,1 ^{*1} | 24,4±1,1 ^{*1} |
| ФЧ | абс. | 9,2±1,4 | 5,5±1,1 ^{*1} | 5,3±1,2 ^{*1} |
| ИАФ | — | 4,5±0,9 | 1,3±1,1 ^{*1} | 1,3±0,2 ^{*1} |
| НСТ-сп. | mOD | 0,17±0,03 | 0,07±0,01 ^{*1} | 0,09±0,04 ^{*1} |
| НСТ-ст. (н/з) | mOD | 0,68±0,02 | 0,18±0,02 ^{*1} | 0,23±0,01 ^{*1} |
| НСТ-ст. (о/з) | mOD | 0,91±0,01 | 0,27±0,03 ^{*1} | 0,30±0,01 ^{*1} |
| КАн | — | 4,00±0,3 | 2,57±0,02 ^{*1} | 2,56±0,02 ^{*1} |
| КАо | — | 5,41±1,8 | 3,86±0,01 ^{*1} | 3,33±0,08 ^{*1} |
| КО | — | 1,34±0,5 | 1,51±0,12 | 1,31±0,22 |
| МП | усл. ед | 90,1±2,2 | 35,1±1,7 ^{*1} | 39,1±3,3 ^{*1} |
| ЛФ | усл. ед | 52,2±2,3 | 21,9±1,2 ^{*1} | 25,2±2,5 ^{*1} |
| МДА | мкмоль/л | 0,4±0,03 | 3,32±0,04 ^{*1} | 3,31±0,06 ^{*1} |
| АГП | усл. ед. | 0,05±0,01 | 0,64±0,03 ^{*1} | 0,70±0,04 ^{*1} |
| Каталаза | мкат/л | 2,4±0,2 | 3,61±0,06 ^{*1} | 3,75±0,03 ^{*1} |
| СОД | УЕ/мл | 1,2±0,02 | 4,71±0,11 ^{*1} | 4,44±0,17 ^{*1} |
| SM_{NO} | мкмоль/л | 3,5±0,1 | 1,25±0,27 ^{*1} | 1,59±0,11 ^{*1} |

У больных с тяжелым течением ОП, где через 14-21 день наблюдалось развитие гнойных осложнений, по сравнению с больными с легким ОП спонтанная и стимулированная синтетическая способность ПМ оказалась существенно выше. Об этом свидетельствовало более значительное повышение уровней как про- (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8), так и противовоспалительных

цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), ИФ α , ИФ γ , С $_3$ -, С $_4$ -компонентов комплемента. При этом синтетическая способность в отношении рецепторного антагониста к ИЛ-1 возростала незначительно (рис. 2). Вероятно, именно это является причиной недостаточности компенсаторной противовоспалительной реакции и последующего развития гнойных осложнений панкреонекроза.

Таким образом, можно констатировать, что у больных с тяжелым течением острого панкреатита развивается выраженная воспалительная реакция, подтверждением чему является повышение синтетической активности перитонеальных макрофагов, однако в связи с явлениями ферментемии страдают рецептор и мембранозависимые процессы, такие как адгезия, фагоцитоз, кислородзависимые и кислороднезависимые механизмы цитотоксичности, обусловленные активацией процессов перекисного окисления липидов, увеличением концентрации продуктов окисления и активных метаболитов кислорода, которые повреждают мембраны клеток, в том числе и ПМ.

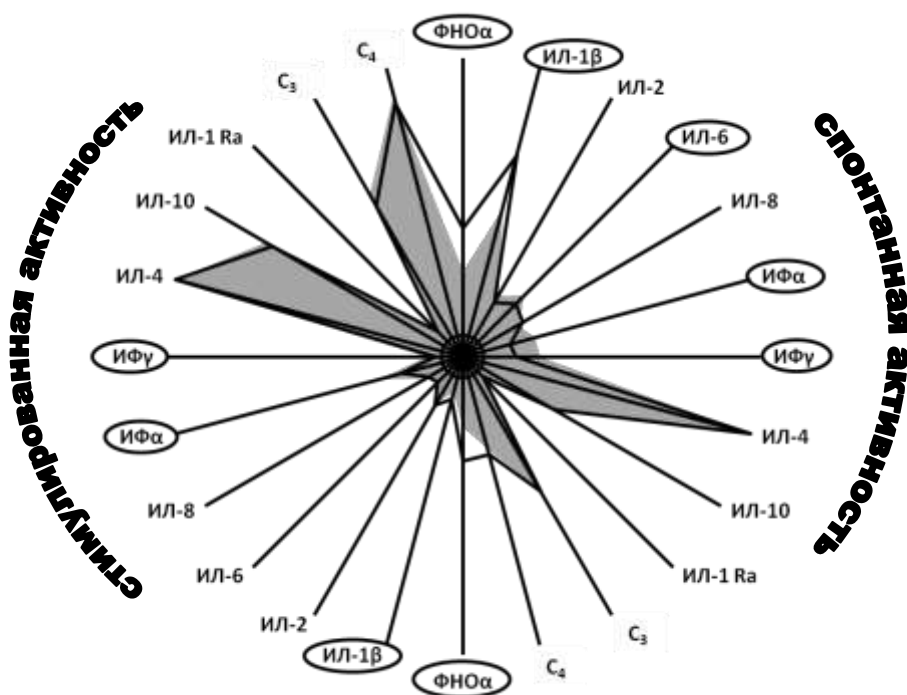
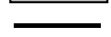



Рис. 2. Изменение спонтанной и стимулированной цитокинпродуцирующей способности ПМ у больных с тяжелым течением ОП.

Обозначения: 1 – радиус окружности – показатели здоровых доноров;

2 –  – показатели больных с тяжелым течением ОП сразу после дренирования;

3 –  – показатели больных с тяжелым течением ОП перед удалением дренажа;

4 –  – $p > 0,05$ по отношению к контрольной группе;

5 –  – $p < 0,05$ 3-й группы по отношению ко 2-й группе.

Примечание: все показатели достоверно отличаются от нормы.

Вероятно, именно некупируемая воспалительная реакция и недостаточность цитотоксической функции клеток являются причиной развития гнойных осложнений панкреонекроза при тяжелом течении этого заболевания.

Сравнительная оценка функциональной активности перитонеальных макрофагов в зависимости от тяжести течения острого панкреатита. При сравнительной оценке функциональной активности ПМ у больных с различной степенью тяжести ОП сразу же после дренирования, как при легком, так и при тяжелом течении заболевания обнаружено снижение показателей, характеризующих фагоцитарную активность ПМ. Только у больных с легким течением заболевания выявлено незначительное, но статистически существенное повышение ФП и ИАФ на фоне традиционной фармакотерапии. В отношении кислородзависимой активности получены диаметрально противоположные данные. Так, при легком течении заболевания выявлено повышение кислородзависимой и кислороднезависимой активности клеток, а при тяжелом – снижение как самих показателей НСТ-теста и активности ферментов, так и резервов клеточной активности, за исключением КО. Традиционная фармакотерапия у больных с легким течением заболевания корригировала кислородзависимую и кислороднезависимую активность ПМ, в то время как при тяжелом ОП показатели оставались на прежнем уровне (табл. 1, 2).

В отношении метаболической активности ПМ у больных с легким течением ОП было при установке дренажей обнаружено повышение уровня как промежуточных, так и конечных продуктов перекисного окисления липидов, активности каталазы и СОД, концентрации SM_{NO} . При проведении традиционной фармакотерапии отмечались корригирующие эффекты на содержание МДА и АГП, но в еще большей степени наблюдалось, вероятно компенсаторное, повышение активности каталазы и концентрации SM_{NO} . При тяжелом течении ОП как после установки, так и при удалении дренажей наблюдалось более существенное повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов, активности каталазы и СОД, но снижение содержания SM_{NO} при отсутствии корригирующих эффектов традиционного лечения (табл. 1, 2).

Надо отметить, что изменения стимулированной способности ПМ к продукции цитокинов имели синхронный характер со спонтанной цитокинпродуцирующей способностью. У больных с легким течением ОП в инкубационной жидкости ПМ без и после их стимуляции отмечалось повышение уровня про- и противовоспалительных цитокинов, ИЛ-1 Ra и C_4 -компонента комплемента.

Содержание C_3 -компонента оставалось на уровне контрольной группы. У больных с тяжелым течением ОП, где через 14-21 день наблюдалось развитие гнойных осложнений, по сравнению с больными с легким ОП спонтанная и стимулированная синтетическая способность ПМ оказалась существенно выше. Об этом свидетельствовало: более значительное повышение уровней как про-(ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8), так и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), ИФ α , ИФ γ , C_3 -, C_4 -компонентов комплемента. При этом синтетическая способность в отношении рецепторного антагониста к ИЛ-1 возрастала незначительно. Перед удалением дренажей в инкубационной среде ПМ у пациентов с легким течением заболевания как нестимулированных, так и после стимуляции, наблюдалась нормализация концентрации ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИФ α , снижение, но не до контрольных показателей, ИЛ-2, ИЛ-6, ИФ γ , C_4 -компонента комплемента и еще большее повышение уровня ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-1 Ra. Продуцирующая способность в отношении C_3 -компонента комплемента после проведенной терапии не изменялась (рис. 1, 2).

Таким образом, можно констатировать, что у больных с тяжелым течением острого панкреатита развивается более выраженная воспалительная реакция, подтверждением чему является повышение синтетической активности перитонеальных макрофагов, однако в связи с явлениями ферментемии страдают рецептор и мембранозависимые процессы, такие как адгезия, фагоцитоз, кислородзависимые и кислороднезависимые механизмы цитотоксичности. Возможно, это обусловлено активацией процессов перекисного окисления липидов, увеличением концентрации продуктов окисления и активных метаболитов кислорода, которые повреждают мембраны клеток, в том числе и ПМ.

Применение методов математического анализа позволило установить, что при установке дренажей у больных с легким течением ОП на момент начала фармакотерапии 35 показателей из 40 были нарушенными в различной степени. Со II-III СР, требующими обязательной коррекции, было 29 показателей, при этом в ФР входили: ИЛ-4, C_4 -компонент комплемента стимулированной продуцирующей способности ПМ и ИЛ-1 β спонтанной активности клеток с III СР. Исследование функциональной активности ПМ перед удалением дренажей у больных с легким течением ОП выявило 27 показателей, отличающихся от нормы (23 показателя со II-III СР). ФР в этом случае состояла из измененных с III СР активности клеточной каталазы, и стимулированной способности ПМ к продукции C_4 -компонента комплемента и ИЛ-10. При тяжелом течении заболе-

вания при поступлении в клинику установлено 39 нарушенных показателя из 40 изученных, из которых со II-III СР было 38. ФР состояла из нарушенной в III СР способности ПМ к стимулированной продукции ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ИЛ-6. На фоне традиционной фармакотерапии перед удалением дренажей число нарушенных показателей не уменьшалось, а ФР состояла из нарушенной в III СР спонтанной способности ПМ к продукции ИЛ-4 и стимулированной способности к продукции ИЛ-4 и ИЛ-6.

Таким образом, наиболее изменяемыми в зависимости от тяжести ОП являются показатели цитокинпродуцирующей активности ПМ.

Надо отметить, что использование такого большого количества показателей в клинике весьма неудобно, так как это сопряжено с несколькими факторами – с недостатком времени, необходимостью быстро диагностировать направленность патологического процесса, кроме того, провести быструю и точную оценку эффективности проводимого лечения.

С этой целью был применен факторный анализ. Если исходить из принципа, что все изученные показатели – это переменные, на которые действуют различные факторы, то можно вообразить трехмерное пространство, в котором переменные удалены на определенное расстояние от нуля. Для больных с легким и тяжелым течением ОП за систему координат можно принять контроль, показатели функциональной активности ПМ сразу после дренирования и перед удалением дренажей. При этом необходимо учитывать как раз те показатели, которые несут наибольшую факторную нагрузку и наиболее сильно отличаются от общей дисперсии. Такой математический метод позволил установить, что наиболее чувствительными к различным факторным нагрузкам при легком и тяжелом течении ОП являются спонтанная способность ПМ к продукции ИЛ-8 и ИЛ-1 Ra и стимулированная способность к продукции ИЛ-1 Ra, причем показатели, независимо от тяжести ОП, для этой патологии оказались одинаковыми. Можно предположить, что ключевыми «переменными» в реализации патологического процесса являются провоспалительный цитокин ИЛ-8 и рецепторный антагонист ИЛ-1Ra.

Таким образом, на основании рейтингового алгоритма и факторного анализа для дополнительного определения в арсенал лабораторных методов для оценки тяжести течения и эффективности лечения заболевания можно рекомендовать определение следующих показателей: спонтанной продукции перитонеальными макрофагами ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-1 Ra, стимулированной

продукции ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, C₄-компонента комплемента, активности внутриклеточной каталазы.

Полученные результаты подтверждают существенную роль системы макрофагов в регуляции иммунных функций и в патогенезе развития многих заболеваний, в частности острого панкреатита. Установленные различия функциональной активности перитонеальных макрофагов в зависимости от степени тяжести заболевания обосновывают необходимость включения в комплексную фармакотерапию послеоперационного периода иммуномодуляторов, у которых основными будут эффекты, регулирующие функциональную активность макрофагов.

ВЫВОДЫ

1. У больных с легким течением острого панкреатита установлено угнетение фагоцитарной и повышение кислородзависимой и кислоронезависимой активности перитонеальных макрофагов, тогда как при тяжелом течении заболевания обнаружено более выраженное угнетение фагоцитарной и снижение метаболической активности данных клеток.

2. При легких формах острого панкреатита, в большей степени при тяжелых, повышается спонтанная и стимулированная способность перитонеальных макрофагов к продукции про- и противовоспалительных цитокинов, иммунорегуляторного ИЛ-2, ИФ α , ИФ γ , рецепторного антагониста к ИЛ-1 β .

3. Вне зависимости от тяжести острого панкреатита повышается активность процессов перекисного окисления липидов, каталазы и супероксиддисмутазы, содержание стабильных метаболитов оксида азота при легком течении повышается, а при тяжелом – снижается.

4. Традиционная фармакотерапия в послеоперационном периоде нормализует при легком течении заболевания – 22,8%, а при тяжелом – 2,5% показателей функциональной, цитокинпродуцирующей и антиоксидантной активности перитонеальных макрофагов.

5. Наиболее диагностически значимыми показателями функциональной активности перитонеальных макрофагов при остром панкреатите являются: спонтанная продукция ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-4, стимулированная продукция ИЛ-1 β , ИЛ-10, C₄-компонента комплемента.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки тяжести течения и эффективности лечения острого панкреатита исследовать способность к спонтанной продукции перитонеальными макрофагами ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-4 и к стимулированной продукции ИЛ-1 β , ИЛ-10, C₄-компонента комплемента.

2. Использовать в учебном процессе медицинских вузов знания о характере и степени нарушений функциональной активности перитонеальных макрофагов в зависимости от степени тяжести острого панкреатита.

3. Рекомендовать в клинических исследованиях разработку способов фармакологической и нефармакологической коррекции нарушений функционально-метаболической активности перитонеальных макрофагов при легком, в особенности, при тяжелом течении острого панкреатита.

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

| | |
|------------------|--|
| АГП | – ацилгидроперекиси, усл. ед. |
| ИАФ | – индекс активности фагоцитоза, ед. |
| ИФ | – интерферон, пг/мл |
| ИЛ | – интерлейкин, пг/мл |
| ИЛ-1Ra | – рецепторный антагонист к ИЛ-1, пг/мл |
| ИСН | – индекс стимуляции нейтрофилов, ед. |
| КАн | – коэффициент активации на неопсонизированный зимозан |
| КАо | – коэффициент активации на опсонизированный зимозан |
| КО | – коэффициент опсонизации |
| ЛФ | – лактоферрин, усл. ед. |
| МДА | – малоновый диальдегид, мкмоль/л |
| МП | – миелопероксидаза, усл. ед. |
| ПЖ | – поджелудочная железа |
| ПМ | – перитонеальный макрофаг |
| НСТ-сп. | – спонтанный тест восстановления нитросинего тетразолия, mOD |
| НСТ-ст. | – стимулированный тест восстановления нитросинего тетразолия |
| н/з; о/з | неопсонизированным или опсонизированным зимозаном, mOD |
| ОП | – острый панкреатит |
| C _{3,4} | – компоненты системы комплемента, мг/дл |
| СМ _{NO} | – стабильные метаболиты оксида азота, мкмоль/л |
| СОД | – супероксиддисмутаза, усл. ед./мл |
| СР | – степень расстройств |
| ФНО | – фактор некроза опухолей, пг/мл |
| ФП | – фагоцитарный показатель, % |
| ФР | – формула расстройств |
| ФРН | – функциональный резерв нейтрофилов, ед. |
| ФЧ | – фагоцитарное число, абс. |

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Уханова И.Ю., Ковальчук Л.В., Локтионов А.Л. Сравнительный анализ спонтанной и стимулированной продукции цитокинов перитонеальными макрофагами *in vitro* при остром панкреатите // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 316.
2. Уханова И.Ю., Ковальчук Л.В., Суняйкина О.А. Изучение функциональной активности перитонеальных макрофагов и оксидантных показателей при остром деструктивном панкреатите // Аллергология и иммунология. – 2009. – Т. 10, №2. – С. 262-263.
3. Уханова И.Ю., Локтионов А.Л., Конопля А.И. Коррекция нарушений функциональной активности нейтрофилов периферической крови и оксидантного статуса у больных острым панкреатитом // Аллергология и иммунология. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 263.
4. Уханова И.Ю., Суняйкина О.А., Конопля А.И., Локтионов А.Л. Сравнительное изучение функциональной активности нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов при остром панкреатите // Материалы III Всерос. конф. молодых ученых, организмов. ВГМА им. Н.Н. Бурденко и КГМУ / под ред. проф. И.Э. Есауленко и проф. В.А. Лазаренко. – Воронеж, 2009. – Т. 1. – С. 119-122.
5. Уханова И.Ю., Ковальчук Л.В., Суняйкина О.А. Коррекция функциональной активности перитонеальных макрофагов при остром деструктивном панкреатите // Тез. докл. XVI Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство» (6-10 апр. 2009 г., г. Москва). – М., 2009. – С. 283.
6. Уханова И.Ю., Локтионов А.Л., Суняйкина О.А., Азарова Ю.Э., Конопля А.И. Влияние лонгидазы на функциональную активность нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов при остром деструктивном панкреатите // Рос. аллергол. журн. – 2009. – Вып. 1, № 3. – С. 397.
7. Локтионов А.Л., Суняйкина О.А., Уханова И.Ю., Янголенко Я.В. Применение ферровира и лонгидазы для коррекции иммунных нарушений у больных с мелкоочаговым панкреонекрозом // Междунар. журн. по иммунореабилитации. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 99.
8. Уханова И.Ю., Суняйкина О.А., Локтионов А.Л., Азарова Ю.Э. Особенности функционального состояния нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов у больных с деструктивными формами острого панкреатита // Материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых-медиков (25-26 февр. 2010 г.) / под ред. В.А. Лазаренко – Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2010. – Т. 3. - С. 295-298.
9. Локтионов А.Л., Уханова И.Ю., Суняйкина О.А., Азарова Ю.Э. Ферровир, лонгидаза и рефортан в иммунореабилитации больных с мелкоочаговым панкреонекрозом // Междунар. журн. по иммунореабилитации. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 173.
10. Уханова И.Ю., Караулов А.В., Локтионов А.Л., Суняйкина О.А. Системная и локальная цитокинопродукция у больных с деструктивными формами острого панкреатита // Систем. анализ и управление в биомед. системах. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 129-132.
11. Локтионов А.Л., Уханова И.Ю., Ликов В.Ф., Конопля А.И., Суняйкина О.А., Караулов А.В. Цитокинпродуцирующая активность перитонеальных макрофагов в зависимости от этиологии острого панкреатита // Иммунология. – 2010. - № 6. – С. 321-325.
12. Коррекция лонгидазной цитокинсинтетической активности перитонеальных макрофагов при остром панкреатите различной этиологии / В.А. Лазаренко, А.Л. Локтионов, И.Ю. Уханова и др. // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». - 2010. - № 4. - С. 34-39.
13. Уханова И.Ю., Караулов А.В., Конопля А.И., Локтионов А.Л., Суняйкина О.А. Функциональная активность перитонеальных макрофагов при остром деструктивном панкреатите: оценка, значение // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. - № 6. – С. 42-44.

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.

Сдано в набор 25.07.2011 г. Подписано в печать 08.08.2011 г.
Формат 30x42¹/₈. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ № 160"А".

Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

