

УДК 616.718.4-001

ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЕРЕЛОМАХ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

Осиков М.В., Давыдова Е.В., Абрамов К.С.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Переломы бедренной кости составляют более 10% от всех дорожных травм и встречаются чаще у лиц молодого и среднего трудоспособного возраста. Переломы бедренной кости относятся к очень тяжелым травмам опорно-двигательного аппарата, они сопровождаются системным ответом организма и включают комплекс нейроэндокринных, гемостазиологических и иммунных изменений уже через несколько минут после травмы. Недостаточное понимание функциональной интеграции комплексного ответа на травматическое повреждение тканей при переломах длинных трубчатых костей, включая факторы как врожденного, так и адаптивного иммунитета, является основным препятствием для создания инновационных методов лечения и совершенствования эффективной терапевтической стратегии при переломах бедра. Нами был проведен критический анализ литературных источников в рецензируемых источниках, таких как Pubmed и Российского индекса научного цитирования, за период 2010–2018 гг., о механизмах включения врожденного компартмента иммунной системы в формирование комплекса нейроиммуноэндокринных изменений при травматическом переломе бедренной кости. Избыточные реакции врожденного иммунитета способствуют дисфункции эндотелия и замыкают порочный круг повреждения тканей на ранних этапах после травмы, что приводит к возникновению инфекционных осложнений, сепсиса, синдрома полиорганной дисфункции.

Ключевые слова: перелом бедренной кости, врожденный иммунитет

CONGENITAL IMMUNITY AT ISOLATED FEMORAL BONE FRACTURES

Osikov M.V., Davydova E.V., Abramov K.S.

«South Ural State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, e-mail: prof.osikov@yandex.ru

Fractures of the femur account for more than 10% of all road injuries and are most common in people of young and medium working age. Fracture of the femur refers to severe trauma of the musculoskeletal system and is accompanied by a systemic response of the body to injury and includes a complex of neuro-endocrine, hemostasiological and immune changes within a few minutes after injury. The lack of understanding of the functional integration of the complex response to traumatic tissue damage in fractures of long tubular bones, including factors of both innate and adaptive immunity, is a major obstacle to creating innovative treatment methods and improving an effective therapeutic strategy for fractures of the hip. A critical analysis of literary sources in peer-reviewed sources Pubmed and the Russian Science Citation Index for the period 2010-2018, on the mechanisms of inclusion of the innate compartment of the immune system in the formation of the neuro-immune-endocrine changes during a traumatic fracture of the femoral bone. Excessive reactions of innate immunity lead to endothelial dysfunction and close the vicious circle of tissue damage in the early stages after injury, which leads to infectious complications, sepsis, multi-organ dysfunction syndrome.

Keywords: fracture of the femur, innate immunity

Согласно данным ежегодных статистических отчетов смертность от последствий дорожно-транспортных происшествий составляет более 1,3 млн случаев и к 2020 г. достигнет пятой позиции среди основных причин смертности и инвалидности [1]. На долю переломов бедренной кости приходится более 10% от всех дорожных травм, ежегодный риск таких переломов составляет от 1 до 3 млн человек в год [2]. Травматические переломы бедренной кости имеют место более чем в 10% повреждений опорно-двигательного аппарата и преимущественно встречаются у молодых людей трудоспособного возраста [3]. Тяжелые повреждения опорно-двигательного аппарата, к которым относятся переломы бедренной

кости, сопровождаются системным ответом организма на травму и включают комплекс нейроэндокринных, гемостазиологических и иммунных изменений уже через несколько минут после травмы. Ведущие позиции в реализации ранних системных реакций организма на обширное повреждение тканей занимают факторы врожденного иммунитета. В то же время недостаточное понимание функциональной интеграции комплексного ответа на травматическое повреждение тканей при переломах длинных трубчатых костей, включая факторы как врожденного, так и адаптивного иммунитета, является основным препятствием для создания инновационных методов лечения и совершенствования эффективной терапевтической стратегии при переломах бедра.

Цель работы – провести критический анализ научной литературы в базах данных, индексированных в рецензируемых источниках Pubmed и Российского индекса научного цитирования за период 2010–2018 гг., о механизмах включения системного воспалительного ответа и врожденного компартмента иммунной системы в ответ на травматическое повреждение бедренной кости.

Система комплемента, а также другие плазменные протеолитические системы (фибринообразования, фибринолиза, калликреин-кининовая) активируются в первые минуты после травмы и имеют значение в координации иммунного ответа [4]. Интегративная роль активации системы комплемента в иммунном ответе после травмы представлена на рисунке 1. Активация системы комплемента и концентрация ее компонентов в плазме, прежде всего анафилотоксинов C3a, C4a, связаны с тяжестью травмы и инфекционными осложнениями; отношение C3a/C3 рассматривается как маркер развития острого респираторного дистресс-синдрома, сепсиса, полиорганной недостаточности. После переломов уровень sC5b-9 и Bb коррелирует с тяжестью травмы, гипоперфузией тканей (за счет перекрестной активации тромбина), плохим клиническим прогнозом.

Концентрация C5a в сыворотке возрастает через несколько минут после травмы и коррелирует с показателями смертности, в том числе в связи с ограничением апоптоза и накоплением нейтрофилов в очаге повреждения, вызывающих увеличение площади вторичной альтерации [5]. Избыточная активация системы комплемента чревата развитием комплементопатии со снижением гемолитической активности комплемента и формированием иммунодефицита после переломов бедренных костей. Имеются данные о роли C3a и C5a в развитии респираторного дистресс-синдрома взрослых и полиорганной недостаточности после травматического повреждения тканей, а повышение концентрации C3a и C5a в сыворотке в течение часа после травмы рассматривается как предиктор респираторного синдрома взрослого типа и полиорганной недостаточности [6]. Ряд исследователей не подтверждают связь между уровнем C3a и C5a в сыворотке и

клиническими проявлениями. В целом большинство авторов констатируют развитие посттравматической «комплементопатии» (по аналогии с посттравматической «коагулопатией») при тяжелых механических травмах, включающее не только последствия активации системы комплемента, но также истощение ее компонентов, а также дисфункцию в связи с нарушением работы ингибиторов комплемента [7, 4].

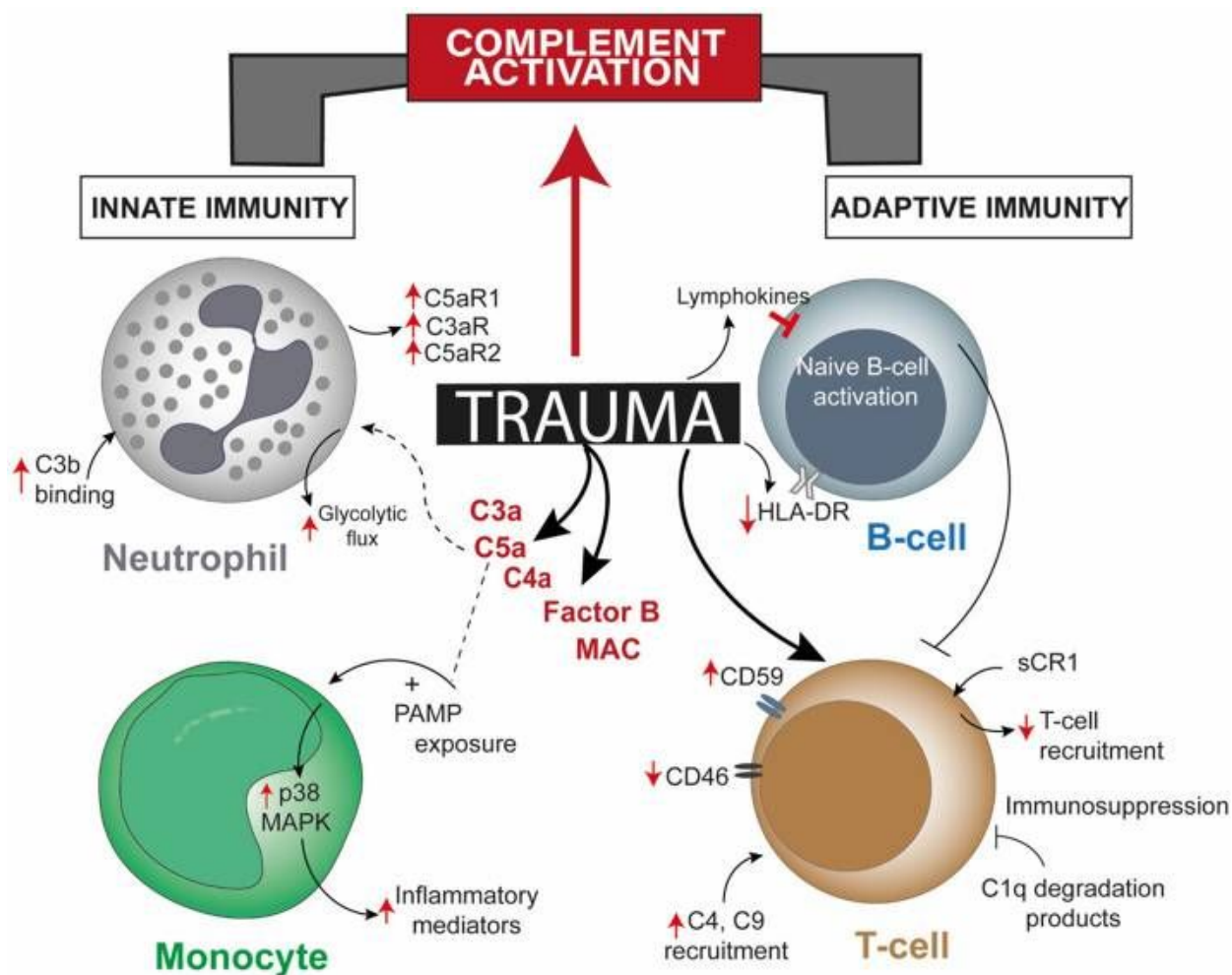


Рис. 1. Роль активации комплемента в реализации врожденного и адаптивного иммунитета после травмы (цит. по [4])

C5a в условиях травмы не только активирует функции нейтрофилов и формирование ВНЛ, изменение метаболизма ПЯЛ за счет усиления гликолиза, но также повышает экспрессию адгезивных молекул на эндотелии, активирует моноциты через p38-MAPK-зависимые пути. Эффекты C5a опосредованы через два рецептора – C5aR1, C5aR2 [8]. Установлено, что блокада рецепторов C5aR1, C5aR2 и C3aR на нейтрофилах коррелирует с инфекционными осложнениями и полиорганной недостаточностью после травмы, а интегрированный клиничко-транскриптомный анализ РНК лейкоцитов установил, что низкая

экспрессия C5 на 1-й день после травмы сопряжена с развитием нозокомиальных инфекций [9].

В последние годы накоплено большое количество сведений о роли системы комплемента в посттравматическом изменении активности адаптивного иммунитета. Так, продемонстрирована роль повышения концентрации C3 в сыворотке и Т-клеточной инфильтрации очага повреждения [10]. Полагают, что анафилотоксины C3a, C4a, C5a участвуют в регуляции Th17-зависимых реакций. Так, C5a через индукцию миграции дендритных клеток из брюшной полости в кровь приводит к экспансии Th17. Показана роль C5a в регуляции активности Т-клеток после травматического повреждения тканей, ассоциированного с DAMP- и PAMP-зависимыми механизмами через стимуляцию или ингибирование продукции макрофагами ИЛ-17, ИЛ-23 [11]. Кроме этого, C5a стимулирует высвобождение гистонов из нейтрофилов, которые в свою очередь индуцируют апоптоз лимфоцитов [12]. Приводят данные о роли системы комплемента в изменении количества и функциональной активности В-клеток после травматического повреждения тканей, инициирующим фактором выступает синдром ишемии-реперфузии при травме [13]. Продemonстрирована роль классического пути активации комплемента и связанной с ним продукции IgM, IgG в формировании вторичной альтерации в ходе ишемии-реперфузии. Изменение синтеза Ig различных классов, а также другие функции В-клеток регулируются C3, комплексом CD19-CR2 и иными факторами [4].

У трансгенных мышей C5aR1^{-/-} и C5aR2^{-/-} по сравнению с контрольной группой диких мышей увеличивается костная масса: у C5aR1^{-/-} за счет снижения количества остеокластов, их гибели путем апоптоза, а у C5aR2^{-/-} за счет увеличения количества остеобластов; после изолированного перелома бедренных костей воспалительный ответ был более выражен у мышей C5aR2^{-/-}, а образование каллюса ускорялось у обоих типов трансгенных мышей [14]. Показано, что избыточная экспрессия C5aR1 в остеобластах значительно ухудшает репарацию костной ткани после травматического перелома [15].

Как видно, роль системы комплемента не ограничивается участием в осуществлении воспалительных реакций, активации клеток врожденного и адаптивного иммунитета, ее компоненты необходимы для опсонизации и удаления не только патогенов, но и погибших клеток, а также репарации костной ткани после повреждения. Компоненты комплемента выступают в роли хемоаттрактантов для стволовых клеток, включая остеобласты и хондробласты при переломах костей, необходимы для поддержания жизнеспособности и получения трофических факторов клетками в области перелома. Рецепторы C3aR и C5aR представлены на остеобластах, хондроцитах, мезенхимальных стволовых и иных клетках, участвующих в заживлении костей после механического повреждения [16]. В экспериментах

in vitro и *in vivo* показана роль C5aR на остеобластах и остеокластах в заживлении костной ткани после поперечного перелома большеберцовой кости за счет активации хемотаксиса остеобластов, остеогенной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток [17].

К ранним реакциям в ответ на массивное повреждение тканей (перелом бедренной кости, сопутствующие повреждения мягких тканей, кровопотеря) относят также формирование синдрома системного воспалительного ответа (SIRS) в результате высвобождения эндогенных факторов DAMPs (damage-associated molecular patterns), к которым в том числе относят митохондриальную ДНК, формилвые пептиды, белок хроматина HMGB1 (High-mobility group box protein) [18, 5]. Именно с DAMPs связывают раннюю активацию систему комплемента, нейтрофилов, моноцитов.

Многие клеточные продукты, синтезируемые в ответ на активацию PRR (паттерн-распознающих рецепторов), таких как TLR, NLR, CLR, MBL, RAGE и иные, рассматривают в качестве диагностических маркеров локальных и системных изменений иммунного статуса, контроля течения посттравматического периода, эффективности проводимой терапии, прогноза инфекционных осложнений, репаративных процессов: ИЛ-1 β , ИЛ-33, HMGB1, S100B, белки теплового шока HSP27, HSP60, HSP70, HSP72 и др. Кроме этого, они являются потенциальными терапевтическими мишенями модуляции посттравматических расстройств гомеостаза [18].

Нейтрофилы первыми мигрируют в очаг травматического повреждения и активируются в том числе в ответ на высвобождение PAMPs, DAMPs (такие как АТФ, гистоны, митохондриальная ДНК и др.), активацию комплемента, кининовой системы и коагуляционного каскада, повышение концентрации провоспалительных цитокинов и иные факторы [19]. Активация нейтрофилов опосредована паттерн-распознающими рецепторами, такими как TLRs, NLRs, RAGE, пуринергические рецепторы и др. [20]. Комплекс внутриклеточных событий в нейтрофилах после травмы описывают как «генетический шторм» [21]. Про- и противовоспалительные эффекты нейтрофилов включают хемотаксис, секрецию цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 α , ИЛ-10 и др.), АФК, фагоцитоз, образование НВЛ [22]. Нейтрофилы после травмы участвуют в деградации гема, относящегося к DAMPs, за счет повышения экспрессии гаптоглобина и гемоксигеназы-1 [9]. Неоспорима роль нейтрофилов в инициации репаративных процессов в поврежденных тканях.

Следует учитывать значительную роль нейтрофилов в повреждении интактных клеток и тканей, окружающих зону травмы за счет высвобождения протеаз (эластаза и др.), АФК, провоспалительных микрочастиц, формирования внеклеточных нейтрофильных ловушек, накопления лактата в тканях [23]. Гистоны и ДНК нейтрофилов сами выступают в роли DAMPs и инициируют дальнейшее воспаление, замыкая *circulus vitiosus*. Кроме этого,

первоначальная активация нейтрофилов может смениться угнетением их функции, прежде всего бактерицидной, что в том числе обусловлено высвобождением незрелых нейтрофилов из костного мозга [24].

Выраженность участия нейтрофилов в иммунных реакциях после травматического повреждения определяется многими факторами (рис. 2). Прежде всего это тяжесть первичного механического повреждения тканей, объем хирургического вмешательства, наличие геморрагического шока, внутрибольничные инфекции, коморбидная патология с иммунодефицитом, факторы микробиома, эпигенетический статус.

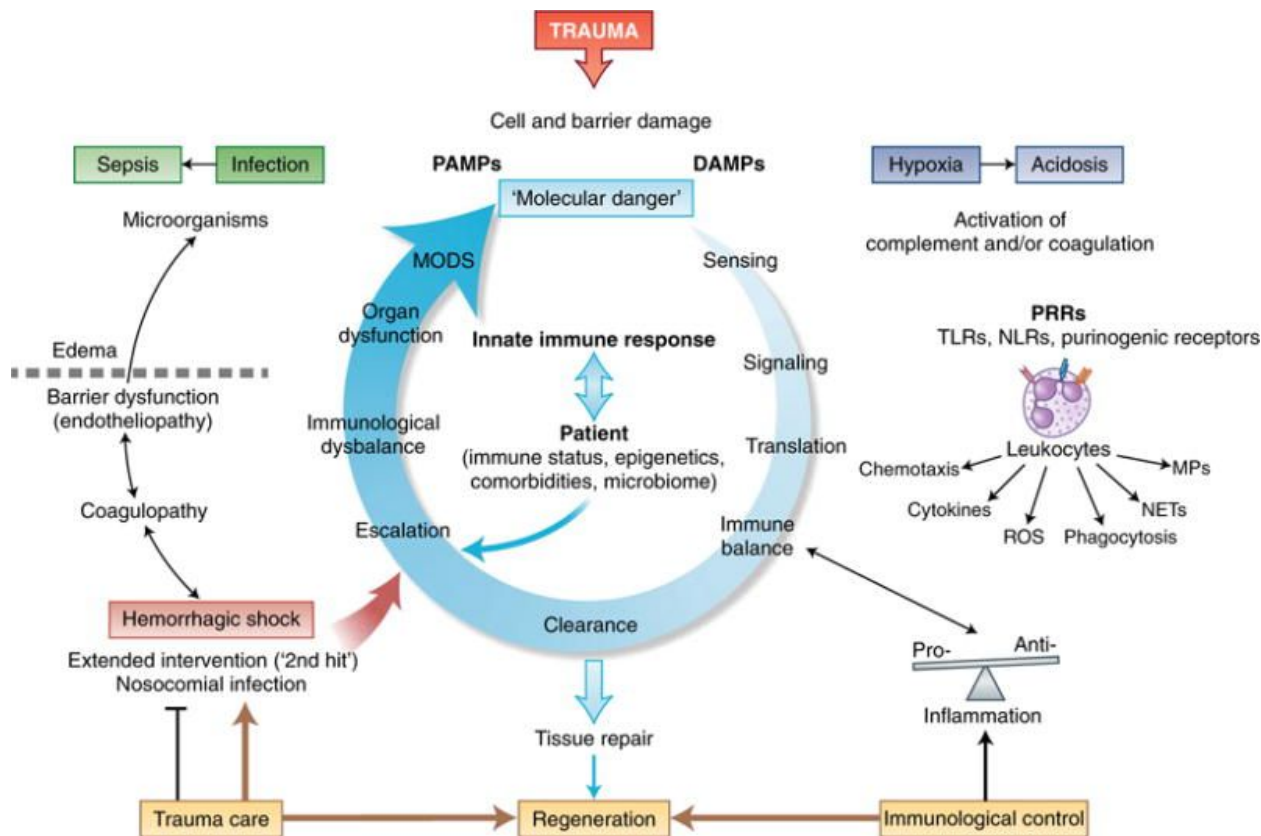


Рис. 2. Роль факторов врожденного иммунитета в посттравматических изменениях гомеостаза (цит. по [19])

Следует отметить, что избыточные реакции врожденного иммунитета (синтез провоспалительных цитокинов, АФК, активация комплемента) могут привести к повреждению и дисфункции эндотелия, что облегчает выход в ткани PAMPs и DAMPs, активирует иммунные реакции и замыкает порочный круг повреждения тканей на ранних этапах после травмы, приводит к возникновению инфекционных осложнений, сепсиса, синдрома полиорганной дисфункции (MODS) [25]. Позднее (14 дней и более после травмы) в связи со стойким катаболизмом белка, супрессией врожденного и адаптивного иммунитета может развиваться синдром стойкого воспаления – иммуносупрессии и катаболизма (PICS), который коррелирует с нарушением репарации тканей, инфекциями, высоким уровнем

смертности [26]. Одним из серьезных последствий избыточной активации факторов врожденного иммунитета является повреждение эпителия кишечника и легочной ткани.

В свою очередь избыточная продукция нейтрофилами и моноцитами/макрофагами матриксных металлопротеиназ, протеаз, АФК, лактата, провоспалительных микрочастиц, а также одновременная активация вегетативной нервной системы (как ответ на стресс при травме, генерализованная вазоконстрикция и снижение секреции NO) в совокупности приводят к глобальной дисфункции и повреждению эндотелия [27]. Нарушение микроциркуляции после вазоконстрикции приводит к активации коагуляционного гемостаза, комплемента и тромбоцитов [28]. Компоненты комплемента вызывают повреждение и нарушение деформабильности эритроцитов, усугубляя нарушения микроциркуляции [29]. Тканевой фактор из поврежденных тканей и активированных лейкоцитов запускает образование тромбина, который вместе с АФК, ферментами, компонентами DAMPs (митохондриальная ДНК) и иными факторами повышают экспрессию адгезивных молекул на эндотелиоцитах, проницаемость за счет нарушения плотных контактов, разрушения ГАГ, гликокаликса эндотелиоцитов и вызывают повреждение эндотелия [30]. В целом посттравматические изменения эндотелия, обусловленные факторами врожденного иммунитета, включают изменение фенотипа эндотелиоцитов с антиадгезивного на проадгезивный, с антикоагулянтного на прокоагулянтный, эпигенетические изменения активности генов ферментов (Rittirsch D, 2016).

Выводы

1. Массивная травма, включающая повреждение костной и мягких тканей бедра, сопровождается включением ранних реакций врожденного компартмента иммунной системы с последующим развитием «комплементопатии» и формированием вторичного иммунодефицита.

2. На роль диагностических маркеров локальных и системных изменений иммунного статуса, а также перспективных мишеней модуляции посттравматических расстройств гомеостаза, инфекционных осложнений, репаративных процессов могут претендовать следующие клеточные продукты: TLR, NLR, CLR, MBL, RAGE, IL-1 β , IL-33, HMGB1, S100B, белки теплового шока и др.

3. Избыточные реакции врожденного иммунитета приводят к дисфункции эндотелия и замыкают порочный круг повреждения тканей на ранних этапах после травмы, что приводит к возникновению инфекционных осложнений, сепсиса, синдрома полиорганной дисфункции.

Список литературы

1. WHO. Violence and injuries: the facts. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2010. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/violence_injury_prevention/key_facts/en/ (дата обращения: 25.12.2018).
2. Agarwal-Harding K.J., Meara J.G., Greenberg S.L. Estimating the global incidence of femoral fracture from road traffic collisions: a literature review. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2015. vol. 97. no.6. P.e31. DOI: 10.2106/JBJS.N.00314.
3. Bommakanti K., Feldhaus I., Motwani G. Trauma registry implementation in low- and middle-income countries: challenges and opportunities. *J. Surg. Res.* 2018. vol. 223. P.72-86.
4. Chakraborty S., Karasu E., Huber-Lang M. Complement After Trauma: Suturing Innate and Adaptive Immunity. *Front Immunol.* 2018. vol. 24. no.9. P.2050. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02050.
5. Burk A.M., Martin M., Flierl M.A. Early complementopathy after multiple injuries in humans. *Shock.* 2012. vol. 37. P. 348–354.
6. Anne-Maud Burk, Myriam M., Michael A. Early Complementopathy after Multiple Injuries in Humans. *Shock.* 2012. vol. 37.no 4. P. 348–354.
7. Amara U., Kalbitz M. Early expression changes of complement regulatory proteins and C5A receptor (CD88) on leukocytes after multiple injury in human. *Shock.* 2010. vol. 33. no. 6. P. 568–575.
8. Colley C.S., Popovic B. Structure and characterization of a high affinity C5a monoclonal antibody that blocks binding to C5aR1 and C5aR2 receptors. *Sridharan S.MAbs.* 2018. vol. 10. no. 1. P. 104-117. DOI: 10.1080/19420862.2017.1384892.
9. Rittirsch D., Schoenborn V., Lindig S. Improvement of prognostic performance in severely injured patients by integrated clinico-transcriptomics: a translational approach *Crit. Care.* 2015. vol. 19. P. 414. DOI:10.1186/s13054-015-1127-y.
10. Korkmaz H.I., Ulrich M.M.W., Wieringen van W.N. The Local and systemic inflammatory response in a pig burn wound model with a pivotal Role for complement. *J. Burn Care Res.* 2017. vol. 38. P. e796–806. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000486.
11. Schwacha M.G., Rani M., Nicholson S.E. Dermal gammadelta T-Cells can be activated by mitochondrial damage-associated molecular patterns. *PLoS ONE.* 2016 . vol. 11. P. e0158993. DOI: 10.1371/journal.pone.0158993.
12. Grailer J.J., Fattahi F. Cutting edge: critical role for C5aRs in the development of septic lymphopenia in mice. *J. Immunol.* 2015. vol. 194. P. 868–872.
13. Joffre O.P., Segura E.. Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol.* 2012. vol. 12. P. 557–69.

14. Kovtun A., Bergdolt S. Complement receptors C5aR1 and C5aR2 act differentially during the early immune response after bone fracture but are similarly involved in bone repair. *Sci Rep.* 2017. vol. 7. no 1. P. 14061. DOI: 10.1038/s41598-017-14444-3.
15. Bergdolt S., Kovtun A., Hägele Y. Osteoblast-specific overexpression of complement receptor C5aR1 impairs fracture healing. *PLoS One.* 2017. vol. 12. no. 6. P.e0179512. DOI: 10.1371/journal.pone.0179512.
16. Matsuoka K., Park K.A., Ito M. Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. *J. Bone Miner Res.* 2014. vol. 29. P.1522–1530.
17. Ignatius A., Ehrnthaller C., Brenner R.E. The anaphylatoxin receptor C5aR is present during fracture healing in rats and mediates osteoblast migration in vitro. *J. Trauma.* 2011. vol. 71. P. 952–960.
18. Relja B., Mörs K., Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2018. vol. 44. no. 3.P. 301–316.
19. Markus Huber-Lang J.D. Lambris P. Innate immune responses to trauma. *Nat Immunol.* 2018. vol. 19. no. 4. P. 327–341.
20. Netea M.G. A guiding map for inflammation. *Nat. Immunol.* 2017. vol. 18. P. 826–831.
21. Xiao W. A genomic storm in critically injured humans. *J. Exp. Med.* 2011. vol. 208. no. 13. P. 2581-90.
22. Seshadri A. Phenotyping the immune response to trauma: a multiparametric systems immunology approach *Crit. Care Med.* 2017. vol. 45. P.1523–1530.
23. Mitchell T.A. Traumatic hemothorax blood contains elevated levels of microparticles that are prothrombotic but inhibit platelet aggregation. *Shock.* 2017. vol. 47. P.680–687.
24. Drifte G., Dunn-Siegrist I., Tissieres P. Innate immune functions of immature neutrophils in patients with sepsis and severe systemic inflammatory response syndrome *Crit. Care Med.* 2013. Vol. 41 no. 3. P. 820–832.
25. Billiar T.R., Vodovotz Y. Time for trauma immunology. *PLoS Med.* 2017. vol. 14. P.e1002342.
26. Ding R.Y., Qiu J.N., Liu B.Y. Retrospective clinical study of sixty-three cases with persistent inflammation immunosuppression and catabolism syndrome. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2016. vol. 55. no. 12. P. 941-944.
27. Johansson P.I. Traumatic endotheliopathy: a prospective observational study of 424 severely injured patients. *Ann Surg.* 2017. vol. 265. P.597–603.
28. Kral J.B., Schrottmaier W.C., Salzmann M. Platelet interaction with innate immune cells. *Transfus Med Hemother.* 2016. vol. 43. P. 78–88.
29. Muroya T. C4d deposits on the surface of RBCs in trauma patients and interferes with their

function. *Crit. Care Med.* 2014. vol. 42. P.364–e372.

30. Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat. Rev. Immunol.* 2015. vol. 15. P.692–704.