УДК 615:616.37:616.39 Вестник СПбГУ. Сер. 11. 2012. Вып. 1

И. А. Сидоров, Л. М. Карзакова, А. Н. Волков

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛЫМИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛИЦА И ШЕИ

ГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», медицинский факультет

Современное течение флегмон челюстно-лицевой области характеризуется увеличением числа атипичных, малосимптоматичных форм. Возрастает количество тяжелых внутри- и внечерепных осложнений флегмон челюстно-лицевой области, представляющих опасность для жизни пациента и в ряде случаев являющихся причиной инвалидизации этой категории больных [1–3].

Большинство авторов связывает рост числа больных с гнойно-воспалительными процессами лица и шеи со снижением резистентности организма и развитием вторичной иммунной недостаточности [4, 5]. Высокая смертность в молодом возрасте из-за генерализации инфекционного процесса побудила нас к поиску более эффективных методов лечения. В этой связи наше внимание привлек рекомбинантный аналог нативного цитокина — интерлейкина-2 (ИЛ-2) — ронколейкин.

Методы. В основу данной работы положены результаты обследования и лечения 48 больных с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями (ГВЗ) лица и шеи (32,7±12,1 лет) и 60 практически здоровых лиц (34,4±7,4 лет). Обследованные больные были разделены на две равные группы в зависимости от метода лечения. Первая группа (группа сравнения) включала пациентов, которым проводили традиционное лечение. При лечении второй (основной группы) к традиционной терапии добавляли иммуномодулятор ронколейкин. При поступлении все больные находились в тяжелом состоянии, обусловленном гнойным процессом, захватывающим 4–6 и более клетчаточных пространств лица и шеи. Больным обеих групп проводили одинаковый по объему и характеру комплекс базисных лечебных мероприятий: под эндотрахеальным наркозом осуществляли вскрытие и дренирование клетчаточных пространств лица и шеи, удаление «причинного» зуба, антибактериальную, дезинтоксикационную, десенсибилизирующую, общеукрепляющую терапию. Ронколейкин применяли по принятому стандарту: два внутривенных вливания ронколейкина в дозах 250000 МЕ (при весе больного менее 70 кг) или 500 000 МЕ (при весе более 70 кг) на 1–2-е и на 3–4-е сутки от момента поступления больного в стационар.

Программа иммунологического обследования больных включала иммунофенотипирование клеток в реакции непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD71, CD95 («Сорбент», г. Москва), определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов — IgM, IgG, IgA — в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини и оценку фагоцитарной активности нейтрофилов в латекс-тесте согласно стандартным методикам [6]. Статистическая обработка результатов исследования проведена с помощью параметрических методов

© И. А. Сидоров, Л. М. Карзакова, А. Н. Волков, 2012

статистического анализа с использованием компьютерной программы STATISTICA for Windows 6,0.

Результаты и обсуждение. Сравнительная оценка показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных и практически здоровых лиц демонстрировала у больных лейкоцитоз (преимущественно за счет увеличения относительного и абсолютного содержания нейтрофилов), уменьшение числа лимфоцитов (как по относительному, так и абсолютному значению), уменьшение относительного содержания эозинофилов, уменьшение общего числа Т-лимфоцитов ($CD3^+$) за счет сокращения численности преимущественно клеток Т-хелперной субпопуляции ($CD4^+$) (табл. 1).

Таблица 1. **Сравнительная оценка показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных тяжелыми ГВЗ лица и шеи и практически здоровых лиц**

Показатель		Больные (n = 48)	Здоровые (n = 60)	$p <$
Лейкоциты	в 1 мкл	15589±4762	5585±1294	0,001
Нейтрофилы	%	82,4±7,31	58,520±7,06	0,001
	в 1 мкл	12880±4120	3236±967	0,001
Лимфоциты	%	9,34±4,93	36,24±7,09	0,001
	в 1 мкл	1424±827	2011±570	0,001
Эозинофилы	%	0,89±0,99	3,00±1,80	0,001
	в 1 мкл	129±147	168±112	NS
$CD3^+$-лимфоциты	%	50,83±9,86	61,90±6,32	0,001
	в 1 мкл	731±500	1246±369	0,001
$CD20^+$-лимфоциты	%	13,07±6,17	14,34±4,49	NS
	в 1 мкл	175±113	289±145	0,001
IgM	г/л	1,57±0,578	1,239±0,311	0,001
IgG		11,32±2,949	11,957±1,940	NS
IgA		2,27±1,027	1,837±0,537	0,01
ЦИК	усл. ед.	15,39±5,447	12,140±3,441	0,001
Фагоцитарный индекс	%	54,79±8,71	62,82±6,10	0,001
Фагоцитарное число		3,67±0,73	4,19±0,69	0,01
$CD4^+$-лимфоциты	%	30,93±8,75	37,78±6,19	0,001
	в 1 мкл	430±289	757±236	0,001
$CD8^+$-лимфоциты	%	22,41±5,44	24,36±3,40	NS
	в 1 мкл	324±23	471±17	0,001
$CD4^+/CD8^+$		1,46±0,55	1,57±0,31	NS

Примечание: здесь и далее данные представлены в виде M±SD, где M — среднее арифметическое, SD — стандартное отклонение; NS — различие не достоверно ($p > 0,05$).

Что касается показателей гуморального звена адаптивного иммунного ответа, обращало внимание уменьшение абсолютного числа В-лимфоцитов ($CD20^+$) при неизменном значении их относительного содержания, а также повышение уровней IgM и IgA. Повышена была также концентрация ЦИК. Фагоцитарная активность нейтрофилов, один из факторов врожденного иммунитета, существенно снижена, что нашло отражение в снижении фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа.

Определенную информацию о функциональной активности иммунокомпетентных клеток дает изучение экспрессии активационных маркеров (CD25, CD71, CD95). Наши исследования выявили у больных ГВЗ лица и шеи уменьшение абсолютного числа клеток, несущих на своей поверхности активационный маркер — Fas-рецептор апоптоза ($CD95^+$) — при одновременном увеличении числа клеток с рецепторами к трансферрину ($CD71^+$) (табл. 2).

Таблица 2. **Показатели экспрессии активационных маркеров на мононуклеарных клетках у больных ГВЗ лица и шеи и практически здоровых лиц**

Показатель		Больные	Здоровые	$p <$
$CD71^+$-клетки	%	7,30±3,48	6,16±4,01	0,01
	в 1 мкл	98±93	127±106	NS
$CD25^+$-клетки	%	7,70±3,50	6,98±2,60	NS
	в 1 мкл	109±106	143±83	NS
$CD95^+$-клетки	%	19,89±7,758	19,960±6,061	NS
	в 1 мкл	277±247	393±137	0,01

Таким образом, при тяжелых ГВЗ лица и шеи наблюдается угнетение клеточного иммунного ответа на фоне активации гуморальной его составляющей, о чем свидетельствует гиперпродукция иммуноглобулинов — IgM и IgA. Угнетение клеточного иммунитета коррелировало с тяжестью инфекционного процесса, с продолжительностью пребывания на стационарной койке. В целях оптимизации существующих методов лечения ГВЗ нами использован препарат, обладающий стимулирующим действием преимущественно на Т-систему иммунитета.

В таблице 3 приведены в сравнительном аспекте иммунологические показатели двух групп больных, получавших лечение традиционным методом (группа сравнения) и получавших наряду с традиционным лечением ронколейкин (основная группа). Анализ этих данных показывает, что в процессе лечения в обеих группах уменьшалось число лейкоцитов преимущественно за счет сокращения численности нейтрофилов, увеличивалось относительное число лимфоцитов и эозинофильных клеток. Происходила активация гуморального механизма адаптивного иммунного ответа: росли уровни основных трех классов иммуноглобулинов на фоне увеличения абсолютного числа В-клеток ($CD20^+$).

Таблица 3. **Динамика показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных под влиянием лечения разными методами**

Показатель		Традиционное лечение (n = 24)	Традиционное лечение + ронколейкин (n = 24)	*p* <
Лейкоциты	I	15746±2667	15400±6180	NS
	II	6953±3405***	7126±3573***	NS
Нейтрофилы палочкоядерные, %	I	17,87±7,63	18,27±7,00	NS
	II	10,73±3,37***	10,33±9,92*	NS
Нейтрофилы палочкоядерные в 1 мкл	I	2840±1349	2830±1784	NS
	II	804±667***	868±1087***	NS
Нейтрофилы сегментоядерные, %	I	64,60±8,27	64,3±39,51	NS
	II	57,27*±8,32	54,20±13,56	NS
Нейтрофилы сегментоядерные в 1 мкл	I	10176±2185	9911±3934	NS
	II	4058±2278***	3882±2631***	NS
Нейтрофилы, %	I	82,47±6,21	82,60±8,30	NS
	II	68,00±9,13***	64,53±12,29**	NS
Нейтрофилы в 1 мкл	I	13016±2593	12742±5214	NS
	II	4863±2911***	4750±3299***	NS
Лимфоциты, %	I	9,40±5,55	9,33±4,24	NS
	II	21,27±5,51***	28,07±4,04***	0,001
Лимфоциты в 1 мкл	I	1419±753	1436±894	NS
	II	1382±542	1934±878*	0,05
Моноциты, %	I	7,00±3,07	5,60±2,77	NS
	II	7,93±5,82	7,27±4,85	NS
Моноциты в 1 мкл	I	1145±633	990±831	NS
	II	547±416***	508±384	NS
Эозинофилы, %	I	0,93±1,21	0,93±0,80	NS
	II	2,33±1,50**	2,13±1,51**	NS
Эозинофилы в 1 мкл	I	124±159	146±142	NS
	II	154±120	131±103	NS
$CD3^+$-лимфоциты, %	I	50,47±11,15	50,60±8,68	NS
	II	49,53±14,05	58,33±6,88**	0,05
$CD3^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	724±522	732±479	NS
	II	663±247	1114±476**	0,01
$CD20^+$-лимфоциты, %	I	12,60±4,76	13,67±7,29	NS
	II	18,67±4,85***	15,60±4,45	NS
$CD20^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	162±66,28	191±144	NS
	II	252±99,93**	299±141**	NS

Показатель		Традиционное лечение (n = 24)	Традиционное лечение + ронколейкин (n = 24)	$p <$
IgM, г/л	I	1,60±0,57	1,42±0,47	NS
	II	2,12±0,70**	1,95±0,67**	NS
IgG, г/л	I	11,76±2,35	10,14±2,37	NS
	II	14,78±4,13**	13,72±4,46*	NS
IgA, г/л	I	2,21±0,91	2,23±0,87	NS
	II	2,64±0,85**	2,78±0,96*	NS
Фагоцитарный индекс, %	I	54,73±9,13	54,00±8,91	NS
	II	54,40±7,99	61,07±9,45*	0,05
Фагоцитарное число	I	3,67±0,79	3,56±0,78	NS
	II	3,75±0,58	3,84±0,66	NS
$CD4^+$-лимфоциты, %	I	31,20±8,50	30,73±9,00	NS
	II	29,07±8,84	35,13±5,54	0,05
$CD4^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	441±295	422±283	NS
	II	389±151	683**±360	0,01
$CD8^+$-лимфоциты, %	I	21,60±5,11	22,80±5,93	NS
	II	24,53±5,87*	23,73±6,19	NS
$CD8^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	315±254	327±206	NS
	II	328±118	456±228	NS
$CD4^+$/ $CD8^+$	I	1,49±0,44	1,46±0,67	NS
	II	1,21*±0,32	1,57±0,47	0,05
ЦИК	I	15,53±6,82	14,64±1,86	NS
	II	12,40*±5,89	7,27±6,45	0,05

Примечания: здесь и в табл. 4 цифрой I обозначен показатель до лечения, цифрой II — после проведенного лечения; *p* — достоверность различия показателей в группах по критерию Стьюдента; звездочками обозначена достоверность различия показателей в динамике под влиянием лечения по парному критерию Стьюдента (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$).

Динамика показателей клеточного механизма адаптивного иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов различалась в зависимости от вида лечения. В группе, получавшей ронколейкин, произошло существенное увеличение исходно сниженных показателей относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+$), практически сравнявшихся с уровнями здоровых лиц. В то же время в группе больных, лечившихся традиционным методом, число клеток этой популяции лимфоцитов осталось практически на первоначальном уровне. На фоне лечения ронколейкином заметно увеличилось количество клеток хелперной субпопуляции Т-клеток ($CD4^+$), в то время как в группе сравнения отмечалась тенденция к уменьшению числа этих клеток. В последней группе увеличилось процентное содержание клеток с фенотипом цитотоксической субпопуляции ($CD8^+$) и снизился иммунорегуляторный индекс. В результате разнонаправленных изменений в субпопуляционном составе Т-клеток в группах

больных разница в значении иммунорегуляторного индекса приобрела статистически значимую достоверность к концу лечения. Кроме того, в основной группе повысился исходно сниженный фагоцитарный индекс, который стал достоверно больше аналогичного показателя группы больных, получавших лечение традиционными методами.

В группе сравнения не произошло изменений в уровне клеток, несущих активационные маркеры, за исключением абсолютного числа $CD25^+$-клеток, которое существенно уменьшилось. В то же время в основной группе увеличилось содержание клеток, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2 ($CD25^+$) и число пролиферирующих клеток ($CD71^+$) как в относительном, так и абсолютном выражении. Увеличилось также абсолютное количество клеток, несущих маркер активационного апоптоза — CD95 (табл. 4).

Таблица 4. **Динамика показателей экспрессии активационных маркеров на мононуклеарных клетках у больных под влиянием лечения разными методами**

Показатель		Традиционное лечение	Традиционное лечение + ронколейкин	*p* <
$CD71^+$-лимфоциты, %	I	7,47±3,29	7,23±3,72	NS
	II	8,47±3,58	10,54±2,85**	NS
$CD71^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	109±103	87±80	NS
	II	111±54	212±112***	0,01
$CD25^+$-лимфоциты, %	I	8,20±3,65	7,46±3,50	NS
	II	8,27±2,40	10,69*±3,35	0,05
$CD25^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	126±123	95±81	NS
	II	108±33***	192±150***	0,05
$CD95^+$-лимфоциты, %	I	20,67±8,46	19,08±6,75	NS
	II	19,47±7,52	16,69±7,73	NS
$CD95^+$-лимфоциты в 1 мкл	I	288±204	266±288	NS
	II	275±200	353±302*	NS

Приведенные данные показывают, что ГВЗ лица и шеи в большинстве случаев протекают на фоне нейтрофильного лейкоцитоза, активации гуморального иммунного ответа и угнетения Т-клеточного звена последнего. Обнаруженная недостаточность Т-системы иммунитета может быть результатом индукции в них глюкокортикостероид-опосредованного апоптоза [7], вследствие активации гипофизарно-надпочечниковой системы, являющейся частью общей реакции организма на любое серьезное заболевание, инфекцию [8]. Известно, что Т-клетки более чувствительны к апоптозу, нежели В-лимфоциты, которые экспрессируют на своей поверхности Bcl-антиген, придающий им устойчивость к апоптогенным факторам.

Независимо от использованного метода в процессе лечения происходила активация гуморального иммунного ответа на фоне уменьшения числа нейтрофильных лейкоцитов и одновременного роста содержания лимфоцитов. При этом добавление в комплексное лечение ронколейкина приводило к восстановлению исходно сниженных показателей клеточного звена адаптивного иммунитета и фагоцитарной актив-

ности нейтрофилов, а также к увеличению экспрессии на лимфоцитах активационных маркеров — CD25, CD71, CD95, что свидетельствовало о повышении их функциональной активности. Результатом положительной динамики иммунологических показателей группы больных, получавших цитокинотерапию, явилось сокращение длительности пребывания на стационарной койке до 18,33±2,55 (против 20,41±4,24 в группе сравнения, $p < 0,05$).

Полученные результаты демонстрируют явные преимущества способа комплексного лечения больных с тяжелыми ГВЗ, включающего цитокинотерапию рекомбинантным интерлейкином-2 — ронколейкином, перед традиционными методами.

Литература

1. *Робустова Т. Г.* Современная клиника, диагностика и лечение одонтогенных воспалительных заболеваний // Рос. стоматол. журн. 2003. № 4. С. 11–16.
2. *Губин М. А., Харитонов Ю. М., Киков Р. Н.* Микробиологическая характеристика внутричерепных осложнений одонтогенной инфекции // Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии: сб. науч. трудов, посвящ. 75-летию со дня основания кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. СПб., 2004. С. 63–64.
3. *Порфириадис М. П., Сашкина Т. И., Шулаков В. В.* Роль вторичной иммунной недостаточности в возникновении гипергического воспаления в челюстно-лицевой области // Рос. стоматол. журнал. 2007. № 3. С. 35–37.
4. *Дурново Е. А., Фурман И. В.* Сравнительный анализ функциональной активности нейтрофилов крови и ротовой полости у больных с гнойно-воспалительным процессом в полости рта // Стоматология. 2007. № 4. С. 35–39.
5. *Тер-Асатуров Г. П.* Некоторые вопросы патогенеза одонтогенных флегмон // Стоматология. 2005. № 1. С. 20–27.
6. *Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Истамов Х. И.* Экологическая иммунология. М.: Медицина, 1995. С. 219.
7. *Cohen J., Duke R.* Apoptosis and programmed cell death in immunity // Ann. Rev. Immunol. 1992. Vol. 10. P. 267–304.
8. *Reichlin S.* Neuroendocrine-immune interactions // N. Engl. J. Med. 1993. Vol. 329. P. 1246–1253.

Статья поступила в редакцию 7 декабря 2011 г.