

# ВЛИЯНИЕ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ РОНКОЛЕЙКИНОМ НА ТЕЧЕНИЕ ГНОЙНОГО РАНЕВОГО ПРОЦЕССА И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ РАНЕВЫХ ФАГОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОДОНТОГЕННЫМИ ФЛЕГМОНАМИ

Долгушин И.И.<sup>1</sup>, Латюшина Л.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт иммунологии, г. Челябинск

<sup>2</sup>Кафедра хирургической стоматологии ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрава»

**Резюме.** Цель работы – анализ течения гнойного раневого процесса и функциональной активности раневых фагоцитов у пациентов с одонтогенными флегмонами на фоне местного лечения ронколейкином. Проведено клиническое рандомизированное исследование, в котором приняли участие 65 пациентов с одонтогенными флегмонами в возрасте от 18 до 74 лет, разделенных на две группы: сравнения, n = 33 (на фоне комплексной медикаментозной терапии получали традиционное местное лечение); основная, n = 32 (на фоне комплексной медикаментозной терапии получали местную иммунотерапию гнойных ран ронколейкином). Установлено, что местное лечение ронколейкином способствует росту числа лимфоцитов и макрофагов раны, ускоряет смену фаз гнойного раневого процесса, повышает индекс люминесценции лизосом в 2,3 раза, интенсивность фагоцитоза нейтрофилов и макрофагов раны в 1,9-2 раза, усиливает резервные возможности раневых нейтрофилов в 1,3 раза, создавая благоприятные условия для элиминации патогена и оптимального заживления гнойных ран у больных с одонтогенными флегмонами.

*Ключевые слова:* фагоциты, флегмоны, ронколейкин.

*Dolgushin I.I., Latyushina L.S.*

## INFLUENCE OF LOCAL RONKOLEIKIN TREATMENT UPON CLINICAL COURSE OF PURULENT WOUNDS AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF WOUND PHAGOCYTES IN PATIENTS WITH ODONTOGENIC PHLEGMONAE

**Abstract.** The aim of the work was to evaluate clinical features of purulent wounds trend and functional activity of local wound phagocytes in the patients with odontogenic phlegmones in the course of local treatment with Ronkoleukin. A randomized clinical study was performed which included sixty-five patients with odontogenic phlegmones. Their age ranged from 18 to 74 years old. The group was divided in two parts, i.e., patients of a comparison group (n = 33) receiving a conventional combined drug therapy, and the persons from study group (n = 32) who were subject to local immunotherapy with Ronkoleukin, applied along with conventional therapy. It was established that the local therapy with Ronkoleikin exerts distinct positive effects, i.e., increase in wound-located lymphocytes and macrophages, acceleration of phasic dynamics of inflammatory

### **Адрес для переписки:**

Латюшина Лариса Сергеевна,  
ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава», деканат стоматологического факультета

454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.

Тел./факс: (351)262-77-12.

Факс: (351) 232-73-69.

E-mail: Latyushinal@mail.ru; dokcyel@mail.ru

events, augmentation of an lysosomal luminescence index (2.3-fold), enhancement of phagocytosis intensity in wound neutrophils and macrophages (1.9-2-fold), strengthening the reserve abilities of wound neutrophils (1.3-fold). These effects create favorable conditions for elimination of pathogen and optimal healing of purulent wounds in the patients with odontogenic phlegmones. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 1, pp 95-100)

## Введение

Последние десятилетия характеризуются увеличением встречаемости распространенной формы гнойно-воспалительного заболевания челюстно-лицевой области — одонтогенных флегмон, повышением частоты атипичного течения, осложнений и летальных исходов. Рост числа больных с одонтогенным воспалением исследователи объясняют рядом факторов, в том числе, снижением резистентности макроорганизма [1, 3, 7, 13]. Реактивность организма во многом определяется функциональной характеристикой гранулоцитов (нейтрофилов и мононуклеаров — моноцитов и макрофагов), степень активности которых определяет объем распространения одонтогенного гнойного процесса [10, 13]. Фагоцитарный пул взаимодействует с антигенсодержащим материалом как прямо, распознавая, поглощая, переваривая его, так и с помощью лимфоцитов, вырабатывающих антитела, существенно повышающие эффективность элиминации патогена из внутренней среды через фагоцитарные звенья иммунитета [2].

Цель работы — провести анализ течения гнойного раневого процесса и функциональной активности раневых фагоцитов у пациентов с одонтогенными флегмонами на фоне местного лечения ронколейкином.

## Материалы и методы

За период с 2005 по 2008 гг. было проведено клиническое рандомизированное исследование, в котором приняли участие 65 пациентов (63% мужчин и 37% женщин) с одонтогенными флегмонами лица и шеи в возрасте от 18 до 74 лет (средний возраст — 35 (29; 44) лет). Все пациенты находились на лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии Челябинской областной клинической больницы (г. Челябинск). У 34% пациентов гнойный процесс был локализован в 1 глубоком клетчаточном пространстве, у 66% больных распространялся на 2-3 и более областей лица и шеи. При поступлении в стационар всем больным проводилось комплексное хирургическое и медикаментозное лечение по общепринятым алгоритмам с учетом индивидуальных особенностей [12]. Критериями исключения из исследования были наличие тяжелой соматической патологии, беременность, лактация и отказ пациента от участия в исследовании. Методом простой рандомизации было сформировано 2 группы: 1) группа сравнения,  $n = 33$  (ГС), пациентам которой на фоне комплексной медикаментозной терапии применяли традиционное местное лечение с учетом фаз гнойного раневого процесса; 2) основная группа,

$n = 32$  (ОГ), больные которой на фоне комплексной медикаментозной терапии получали местную иммунотерапию ронколейкином (ООО «БИТЕХ», Санкт-Петербург) [6] по разработанной в ходе исследования схеме с учетом фаз гнойного раневого процесса (заявление о выдаче патента РФ на изобретение № 2007121812, приоритет изобретения 09.06.2007). Пациенты обеих групп были сопоставимы по распространенности гнойного процесса, по полу и возрасту.

Для объективной оценки течения гнойного раневого процесса проводили микробиологическое и цитологическое исследование раневого отделяемого. Забор материала для микробиологического исследования осуществляли на 1, 3, 6 и 9 сутки лечения с помощью стерильного тупфера, проводили их в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 от 22.01.85 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [1]. Количественный посев осуществляли на питательные среды: 5% гемагар, 10% желточно-солевой агар, среда Эндо, среда Сабуро и инкубировали в термостате при  $t = 37^\circ\text{C}$  18-24 часа, степень обсемененности образца выражали в колониеобразующих единицах микроорганизмов, находившихся в 1 мл среды (КОЕ/мл) [1]. Клеточный материал для цитологического исследования собирали методом «поверхностной биопсии» [4] на 2, 4 и 8 сутки послеоперационного лечения. В окрашенных по Паппенгейму мазках определяли относительное содержание нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и фибробластов. Значение показателя определялось при подсчете не менее 200 клеток.

Для оценки местного иммунитета раны у пациентов на 2 и 8 сутки послеоперационного лечения стандартной кюретажной ложкой (0,02 мл) производили забор раневого экссудата, помещали его в 1,0 мл стерильного физиологического раствора. Исследования проводили не позднее 2 часов с момента забора материала по нижеуказанным методикам, взвесь клеток инкубировали не более 30 минут в термостате при  $t = 37^\circ\text{C}$  [2], что позволяло избегать пророста. Изучали лизосомальную, фагоцитарную и НСТ-редуцирующую функции нейтрофилов, а также лизосомальную и фагоцитарную функции макрофагов раны. Состояние лизосомного аппарата фагоцитирующих клеток исследовали по методу И.С. Фрейдлин (1986), определяя суммарную люминесценцию лизосом (индекс люминесценции лизосом — ИЛЛ) [2]. Оценку активности (ФА) и интенсивности (ИФ) фагоцитоза проводили на модели поглощения частиц латекса [2]. Изучение внутриклеточного

кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (тест восстановления нитросинего тетразолия – НСТ-тест) проводили в модификации А.Н. Маянского и М.К. Виксмана (1979) [8]. Функциональный резерв клеток (ФР) определяли как разницу между числом (интенсивностью) индуцированных НСТ-позитивных клеток и числом (интенсивностью) спонтанных НСТ-положительных клеток [2]. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета статистических программ «statistica 6.0» с применением непараметрических критериев Вилкоксона и Манна–Уитни. Полученные данные представляли как медиану – величину, соответствующую середине ряда ранжированных величин (25; 75 процентиля), – Me (Q25–75) в соответствии с современными требованиями доказательной медицины [11].

## Результаты

В результате исходного микробиологического исследования было выявлено превалирование в микробном пейзаже больных с одонтогенными флегмонами коагулазонегативных стафилококков и стрептококков. *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* высевались у 46% пациентов в группе сравнения и у 52% больных основной группы, выделение *Streptococcus spp.* зарегистрировано у 18%

пациентов в группе сравнения и у 16% больных основной группы. Общая обсемененность раны в первые сутки лечения у больных группы сравнения составила  $10^{4,5(3;5)}$  КОЕ/мл, у пациентов основной группы –  $10^{4(3;5)}$  КОЕ/мл. На 9 сутки традиционного местного лечения бактериальная обсемененность гнойных ран сохранялась у 19% пациентов. По частоте выделения лидирующие позиции в микробном спектре сохранял *S. epidermidis*: на 3 сутки лечения высевался у 16% больных, на 6 сутки – у 15%, к 9 суткам – у 16% пациентов. Отмечено также присоединение грам-отрицательной флоры (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) – на 6 сутки у 9% больных, к 9 суткам лечения у 3% пациентов. Общее количество микроорганизмов в 1,0 мл раневого отделяемого на 3 сутки лечения снижалось, составляя  $10^{2(1,5;2)}$  КОЕ/мл, но к 6 суткам возрастало до  $10^{3,5(3;5)}$  КОЕ/мл и на 9 сутки лечения определялось в концентрации  $10^{1,5(1;2,5)}$  КОЕ/мл. Количественное изучение микрофлоры при применении локальной иммунотерапии ронколейкином у пациентов с одонтогенными флегмонами обнаружало к 3 суткам снижение общей бактериальной обсемененности до  $10^{2(1,5;2)}$  КОЕ/мл, и на 6 сутки лечения рост микроорганизмов в ране не определялся ( $p < 0,001$  с группой сравнения).

**ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОК ГНОЙНОЙ РАНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОДОНТОГЕННЫМИ ФЛЕГМОНАМИ**

Содержание клеток раны, %	Группы больных	Сроки исследования		
		2 сутки	4 сутки	8 сутки
Нейтрофилы	ГС, n = 33	86 (81; 91)	84 (78; 89)	77 (70; 89)
	ОГ, n = 32	87 (82; 90)	70 (63; 75)***	57 (48,5; 63)***
Лимфоциты	ГС	3 (2; 5)	3,5 (2; 6)	7 (4; 9)
	ОГ	3 (2; 5)	13 (11; 14)***	10 (9; 14)**
Макрофаги	ГС	8 (6; 11)	9 (6; 13)	12 (5,5; 16)
	ОГ	6,5 (4,7; 9)	14 (11; 18)***	22 (16; 26,5)***
Фибробласты	ГС	0 (0; 1)	2 (1; 5)	5 (2; 8)
	ОГ	1 (0; 1)	4 (2; 6,5)**	14 (10,5; 20)**

**Примечание.** ГС – группа сравнения; ОГ – основная группа. Статистическая значимость различий между группами (сроки соответствуют).\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

Установлено, что исходные данные цитологического исследования у больных двух групп статистически не отличались – на 2 сутки лечения определялся воспалительный тип цитогрaмм с преобладанием в мазках нейтрофильных гранулоцитов, имеющих признаки деструкции, незначительным количеством макрофагов, лимфоцитов и практически полным отсутствием фибробластов (табл. 1). К 8 суткам традиционного местного лечения в исследуемом материале сохранялись все признаки воспаления – относительное содержание нейтрофилов оставалось на исходном уровне, среди макрофагов преобладали незрелые формы, незначительно увеличилось процентное число лимфоцитов и фибробластов. У пациентов, получавших местное лечение ронколейкином, к 4 суткам лечения

регистрировался тип цитогрaммы, приближенный к регенераторному, – обнаруживалось статистически значимое с группой сравнения ( $p < 0,001$ ) уменьшение относительного числа нейтрофилов, рост содержания лимфоцитов и макрофагов среди увеличивающегося числа фибробластических клеток, включая фиброциты ( $p = 0,002$ ). К 8 суткам лечения на фоне продолжающегося снижения числа нейтрофильных гранулоцитов ( $p < 0,001$ ), стабилизации содержания лимфоцитов ( $p = 0,007$ ) и роста макрофагов ( $p < 0,001$ ) наблюдалось значительное повышение относительного содержания фибробластов ( $p = 0,001$ ).

Показатели функциональной активности фагоцитов гнойной раны обеих групп на 2 сутки лечения не имели статистически значимых различий (табл. 2). В динамике традиционного

**ТАБЛИЦА 2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И МАКРОФАГОВ ГНОЙНОЙ РАНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОДОНТОГЕННЫМИ ФЛЕГМОНАМИ**

Показатель	Группа сравнения, n = 28		Основная группа, n = 28	
	2 сутки	8 сутки	2 сутки	8 сутки
ИЛЛ нейтрофилов, у.е.	160 (94; 446)	295,5 (152; 526)	212 (175; 512)	505 (297; 635)*
ФА нейтрофилов, %	50 (36; 60)	50 (40; 60)	50 (40; 65)	60 (42; 70)
ИФ нейтрофилов, у.е.	1,9 (1,7; 3,3)	1,8 (1,5; 3,2)	1,9 (1,4; 3,7)	3,2 (2,3; 4,6)*
НСТ-спонтанный тест нейтрофилов, %	68 (36; 70)	67 (50,5; 80)	62 (50; 70)	68 (50; 72,5)
НСТ-спонтанный тест нейтрофилов, у.е.	0,9 (0,5; 1)	1,1 (0,7; 1,2)	0,7 (0,5; 0,9)	1 (0,6; 1,1)
НСТ-индуцированный тест нейтрофилов, %	89(60; 90)	80 (62; 89)	80 (70; 90)	80 (70; 95)
НСТ-индуцированный тест нейтрофилов, у.е.	1,3 (0,7; 1,7)	1,25 (0,9; 1,5)	1,1 (0,9; 1,3)	1,55 (1,3; 1,8)
ФР нейтрофилов, у.е.	1,2 (1,04; 1,4)	1,3 (1,1; 1,5)	1,2 (1,1; 1,8)	1,55 (1,4; 1,8)**
ИЛЛ макрофагов, у.е.	180 (80; 338)	140 (128; 272)	140 (72; 180)	200 (180; 290)
ФА макрофагов, %	40 (33; 54)	50 (40; 70)	40 (40; 52)	65 (60; 80)
ИФ макрофагов, у.е.	1,65 (1; 1,8)	1,9 (1,4; 2,1)	1,8 (1,5; 3,5)	3,4 (2,3; 4,8)*

**Примечание.** Статистическая значимость различий между группами: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  (сроки соответствуют).

местного лечения у пациентов группы сравнения функциональные параметры клеток местного очага статистически значимых различий с исходными данными не имели. У пациентов, получавших локальную иммунокоррекцию ронколейкином, на 8 сутки лечения было выявлено статистически значимое с группой сравнения повышение ряда показателей: индекса люминесценции лизосом раневых нейтрофилов ( $p = 0,028$ ); интенсивности фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов ( $p = 0,03$ ) и макрофагов ( $p = 0,05$ ); функционального резерва нейтрофилов ( $p = 0,004$ ).

## Обсуждение

Анализируя полученные в процессе исследования данные, можно заключить, что у больных с одонтогенными флегмонами, получавших традиционную местную терапию, были выявлены изменения в показателях функциональной активности фагоцитов раны, которые сохранялись к концу недельного срока комплексного лечения. Отсутствие статистически значимых различий в исходных и динамических показателях местного иммунитета свидетельствовало об угнетении эффекторных характеристик нейтрофилов и макрофагов раны, что могло приводить к замедлению элиминации патогена и способствовать развитию вторичной инфекции. Это, в свою очередь, тормозило развитие процессов регенерации поврежденных тканей и заживление раны [5].

Известно, что экзогенно введенные цитокины инициируют иммиграцию клеток крови в рану и запускают локальный цитокиновый каскад с участием раневых клеток. Локализация клеток и стимуляция их функциональной активности ведут к очищению раны и ускоряют наступление регенерации [5], что было выявлено при местном лечении гнойных ран ронколейкином. У больных основной группы рекомбинантный ИЛ-2 стимулировал миграцию лейкоцитов (лимфоцитов и моноцитов/макрофагов) в очаг гнойного воспаления, активируя тем самым смену фаз гнойного процесса. Помимо этого, существенно возросла функциональная активность фагоцитов раны (лизосомальная, фагоцитарная), приводящая к очищению раны от микробной флоры, и в итоге регистрировалось раннее наступление регенераторной фазы гнойного раневого процесса, то есть оптимальное заживление раны [5]. Подобный механизм действия рекомбинантного ИЛ-2 в зоне гнойного очага воспаления, возможно, связан с его влиянием на рост, дифференци-

ровку, активацию лимфоцитов, НК-клеток и моноцитов (они экспрессируют  $\beta\gamma$ - димер рецептора для ИЛ-2), усиливая генерацию активных форм кислорода и перекисей [6, 14], что приводило к деконтаминации раны. Локально введенный ронколейкин способен запускать каскад цитокиновых реакций, проявляющийся в том числе повышением продукции ИFN $\gamma$  активированными лимфоцитами. ИFN $\gamma$ , в свою очередь, служит стимулятором макрофагов [9, 14], обеспечивая проявление различных функций этих клеток, включая обработку и представление антигенов, выработку цитокинов, активирующих эффекторные клетки местного очага.

Таким образом, можно заключить, что локальная иммунокоррекция гнойных ран ронколейкином является эффективным дополнением к комплексному лечению больных с одонтогенными флегмонами лица и шеи.

## Список литературы

1. Агапов В.С., Тарасенко С.В., Трухина Г.М., Лакшин А.М. Внутрибольничные инфекции в хирургической стоматологии. — М.: Медицина, 2002. — 256 с.
2. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. — Екатеринбург: Урал. отд-е РАН, 2001. — 278 с.
3. Дурново Е.А. Сравнительный анализ функциональной активности нейтрофилов крови и ротовой полости у больных с гнойно-воспалительным процессом в полости рта // Стоматология. — 2005. — № 3. — С. 29-32.
4. Камаев М.Ф. Инфицированная рана и ее лечение. — М.: Медицина, 1970. — 158 с.
5. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Иммунорегуляторы и локальная иммунокоррекция // Иммунология. — 1995. — №1. — С. 4-7.
6. Козлов В.К. Ронколейкин®: биологическая активность, иммунокорректирующая эффективность и клиническое применение // Справочник по иммунотерапии / Под ред. А.С. Симбирцева — СПб.: Диалог, 2002. — 478 с.
7. Левенец А.А., Чучунов А.А. Одонтогенные флегмоны челюстно-лицевой области // Стоматология. — 2006. — № 3. — С. 27-29.
8. Маянский А.Н. Виксман М.К. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: Методические рекомендации. — Казань, 1979. — 11 с.

9. Москалев А.В., Сбойчаков В.Б. Инфекционная иммунология. — СПб.: ФОЛИАНТ, 2006. — 169 с.

10. Порфириадис М.П., Сашкина Т.И., Шулаков В.В., Маркина М.Л. Роль вторичной иммунной недостаточности в возникновении гипергического воспаления в челюстно-лицевой области // Российский стоматологический журнал. — 2007. — № 3. — С. 35-37.

11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ statistica. — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.

12. Соловьев, М.М., Большаков О.П. Абсцессы, флегмоны головы и шеи. — М.: МЕДпресс, 2001. — 229 с.

13. Тер-Асагуров Г.П. Некоторые вопросы патогенеза одонтогенных флегмон // Стоматология. — 2005. — № 1. — С. 20-27.

14. Ярилин А.А. Основы иммунологии. — М.: Медицина, 1999. — 607 с.

*поступила в редакцию 18.07.2008*

*отправлена на доработку 27.08.2008*

*принята к печати 25.10.2008*