УДК 617-089-083.98

СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФОРМ ИЛ-1β И ИЛ-2 В ЛЕЧЕНИИ ТЯЖЕЛЫХ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛИЦА И ШЕИ

Сидоров И. А.[1], Зыятдинов К. Ш.[2], Добров А. В.[1], Сидорова О. А.[1], Белопухов В. М.[2]

[1]ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», медицинский факультет. Чебоксары, Россия (428000, Чебоксары, Московский проспект 45) e-mail: ivansv68@yandex.ru
[2]ФГБОУ ВПО «Казанская медицинская академия последипломного образования Минздравсоцразвития России» (г. Казань, ул. Муштари 11). E-Mail:ksma@mi.ru

При исследовании цитокинового статуса у больных с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями лица и шеи выявлено, что у пациентов с низкой продукцией ИЛ-2 имеется прямая корреляционная связь исходных уровней ИЛ-2 и РА-ИЛ-1β. Известно, что РА-ИЛ-1β обладает способностью подавлять активность ИЛ-2, что приводит к угнетению адаптивного клеточного иммунитета. В связи с этим в лечение больных мы добавили два цитокинсодержащих препарата – ронколейкин и беталейкин. Включение рекомбинантного ИЛ-1β (беталейкин) продиктовано необходимостью нейтрализации РА-ИЛ-1β, концентрация которого могла повыситься в результате введения в циркулирующую кровь больных рекомбинантного ИЛ-2 (ронколейкин). У больных, получавших сочетанную цитокинотерапию беталейкином и ронколейкином, происходило повышение IgG, в то время как в сравниваемой группе пациентов без цитокинотерапии повышались уровни IgM, IgG и IgA. При использовании цитокинотерапии значительно уменьшалось абсолютное число палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов В-лимфоцитов. Также увеличилось содержание клеток с активационными маркерами CD71, CD25.

Ключевые слова: гнойно-воспалительные заболевания, цитокиновый статус, вторичный иммунодефицит, цитокинсодержащие препараты – ронколейкин и беталейкин.

THE APPLICATION OF COMBINED RECOMBINANT FORMS OF IL-1 β AND IL-2 IN TREATMENT OF HEAVY FACE AND NECK PYO-INFLAMMATORY DISEASES

Sidorov I. A.[1], Ziyatdinov K. SH.[2], Dobrov A. V.[1], Sidorova O. A.[1], Belopuhov V. M.[2]

[1]FSBEI HPE «Chuvash State Universityn.a. I.N. Ulyanov», faculty of medicine. Cheboksary, Russia (42800, Cheboksary, Moskovsky Avenue 45) e-mail: ivansv68@yandex.ru
[2]FSBEI HPE «Kazan medical academy of postdegree formation of the ministry of public health and cocial development of Russia» (Kazan, Mushtari St. 11) e-mail:ksma@mi.ru

During the examination of cytokine status among patients with heavy face and neck pyo-inflammatory diseases it was allocated that patients with low-level IL-2 production have direct correlation of basal values of IL-2 and RA-IL1β. It is known that RA-IL1β is able to suppress activity of IL-2. It leads to oppression of adaptive cellular immunity. In this connection we added two cytokine-containing medicines – ronkoleukin and betaleukin to treatment of the patients. The inclusion of recombinant IL1 β (betaleukin) was dictated by the necessity of the RA-IL1β neutralization which concentration could be exceeded as a result of recombinant IL-2 (ronkoleukin) introduction into circulating blood of patients.Patients who were given combined cytokine therapy of betaleukin and ronkoleukin faced the IgG elevation while patients in the comparable group without cytokine therapy were characterized by the elevation of IgM, IgG and IgA. The cytokine therapy usage caused a significant decrease of absolute number of stab neutrophils, monocytes and B- lymphocytes. In addition, the content of cells with activation marker CD71 and CD25 increased.

Key words: pyo-inflammatory diseases, cytokine status, secondary immunodeficiency, cytokine-containing medicines – ronkoleukin and betaleukin.

Введение

В последние годы число больных с гнойно-воспалительными заболеваниями (ГВЗ) лица и шеи значительно увеличилось, изменилось клиническое течение патологического процесса, возросла частота тяжелых форм, при которых процесс распространяется на

смежные клетчаточные пространства с поражением органов уха, горла и носа, глазницы, а также – с развитием угрожающих жизни осложнений (контактного медиастинита, сепсиса, тромбоза кавернозного синуса, абсцесса головного мозга), приводящие в ряде случаев к инвалидизации этой категории больных [4, 5]. Как правило, лечение ГВЗ лица и шеи предусматривает вскрытие гнойного очага, внутримышечное или внутривенное введение антибиотиков в течение 10–14 дней (в пределах необходимого) и препаратов, усиливающих их действие или снижающих побочные явления, назначение дезинтоксикационной, общеукрепляющих средств [3].

В связи с нарушением при данной патологии механизмов антиинфекционной защиты больным назначают иммунокорригирующие препараты, физиопроцедуры (УВЧ, УФ-лучи, лазеролечение, ультразвук, импульсные токи, тепловое воздействие и др.), которые позволяют стимулировать иммунобиологические реакции организма, снизить общую и местную сенсибилизацию, изменить нервно-гуморальные реакции, гнойно-воспалительный процесс в патологическом очаге, усилить действие медикаментов [1].

Важным критерием для прогноза заболевания при тяжелых ГВЗ лица и шеи является определение цитокинового статуса у больных в ранние сроки поступления на стационарное лечение и использование цитокинотерапии для коррекции иммунных нарушений.

Наши исследования показали, что у больных с низкой продукцией ИЛ-2 обнаружена прямая корреляционная связь исходных уровней ИЛ-2 и РА-ИЛ-1β, а из литературных источников известно, – что РА-ИЛ-1β обладает способностью подавлять активность данного цитокина. В связи с этим в лечение больных с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями лица и шеи мы добавили два цитокинсодержащих препарата – ронколейкин и беталейкин. Включение рекомбинантного ИЛ-1β(беталейкин), продиктовано необходимостью нейтрализации РА-ИЛ-1β, концентрация которого могла повыситься в результате введения в циркулирующую кровь больных рекомбинантного ИЛ-2.

Цель исследования – оценить эффективность лечения больных с тяжелыми флегмонами лица и шеи, состоящего из комплексного лечения с применением сочетанной цитокинотерапии ронколейкином и беталейкином.

Материал и методы исследования. Под нашим наблюдением находилось 100 больных в возрасте от 16 до 60 лет с тяжелыми флегмонами лица и шеи, поступивших на лечение в отделение челюстно-лицевой хирургии Республиканской клинической больницы Минздравсоцразвития Чувашской Республики за период с 2007 по 2010 год. Диагноз ГВЗ лица и шеи устанавливался на основании клинических, лабораторных и рентгенологических исследований. При поступлении преобладающее большинство больных находились в тяжелом состоянии, обусловленном гнойным процессом, захватывающим 4–6 и более

клетчаточных пространств лица и шеи (по критериям ССВО больные относились к третьей группе, тяжесть состояния пациентов по шкале APACHE более 12 баллов).

Помимо общепринятых методов клинико-лабораторного исследования больным проводили на 2–3 сутки после поступления больного в стационар определение показателей иммуноцитокиновой статуса. Иммунологические исследования включали: иммунофенотипирование мононуклеарных клеток периферической крови методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD20, («Сорбент», Москва), определение концентрации сывороточных IgM, IgG, IgA по Манчини [6], циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000), изучение фагоцитарной активности нейтрофилов в латекс-тесте согласно стандартным методикам [2]. Количественное определение цитокинов в сыворотке крови – ИЛ-1β, ИЛ -2, ИЛ -4, ИЛ -10, ИЛ -8, ИЛ -10, ФНОα, ИФН-γ, рецепторного антагониста ИЛ-1β (РА-ИЛ-1β) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Цитокин», С-Петербург) в соответствии с прилагаемой к набору методикой. Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием компьютерной программы STATISTICA for Windows 6,0. Данные представляли в виде M±SD, где M – средняя арифметическая, SD – среднеквадратичное отклонение. Достоверность различий между изучаемыми выборками по анализируемому показателю оценивали по параметрическому t-критерию Стьюдента.

По результатам оценки иммуноцитокинового статуса выделяли 2 группы больных с признаками недостаточности клеточного звена иммунного ответа, которые разделены на 2 подгруппы в зависимости от метода лечения. В первую подгруппу вошли 30 пациентов, которых лечили по традиционной схеме. Вторую подгруппу составили 30 больных, получавших, кроме базисной терапии, ронколейкин и беталейкин. Цитокинотерапия включала два внутривенных вливания ронколейкина в дозах 250000 МЕ (при весе больного<70 кг) или 500000 МЕ (при весе>70 кг) – в 1–2 и 3–4 сутки от поступления больного в стационар. Препарат вводили на изотоническом белковом буфере: для его получения к 400 мл физиологического раствора хлорида натрия добавляли 5 мл 10 % альбумина. Внутривенные инфузии проводили очень медленно (10–15 капель в минуту).

Лечение беталейкином проводили в виде курса из 3-х ежедневных капельных внутривенных инфузий в концентрации 0,25мкг на 500 мл изотонического 0,9 % раствора натрия хлорида или 5 % раствора глюкозы. Продолжительность инфузии от 60 до 180 минут. Препарат использовали на 6-е, 7-е и 8-е сутки лечения больного в стационаре. Оптимальная суточная концентрация препарата 0,25мкг.

В обеих подгруппах проводилось комплексное лечение, включающее вскрытие флегмоны в первые 2-3 часа после поступления в стационар, некрэктомию, установление системы перфорированных трубок для дренирования и ежедневного промывания гнойного очага растворами антисептиков широкого спектра действия, а также – антибактериальную, дезинтоксикационную, общеукрепляющую и физиотерапию.

По тяжести течения гнойного процесса, возрастному составу, этиологическим факторам больные обеих подгрупп были идентичны.

Результаты и обсуждение

Проведена сравнительная оценка иммунологических показателей двух подгрупп больных – леченных традиционным методом (группа сравнения) и получавших наряду с традиционным лечением ронколейкин и беталейкин (основная группа). Результаты исследования показали, что при сочетанном использовании двух указанных цитокинов к концу лечения относительное число палочкоядерных нейрофилов было достоверно ниже, по сравнению с показателями группы, леченной стандартным методом, в то время как содержание лимфоцитов в относительном выражении было выше (табл. 1). Выше было также содержание Т-лимфоцитов (в относительном и абсолютном значениях).

Т а б л и ц а 1

Изменение показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных под влиянием комбинированной цитокинотерапии

Показатель		Традиционное лечение n=30	Традиционное лечение + ронколейкин + беталейкин n = 30	p
		M ± SD	M ± SD	
Лейкоциты	I	15746 ± 2667	15328 ± 6196	0,824
	II	6953 ± 3405***	6014 ± 2117*	0,512
Нейтрофилы палочкоядерные, %	I	17,87 ± 7,6	17,7 ± 4,5	0,962
	II	10,73 ± 3,4***	5,7 ± 3,2*	0,004
Нейтрофилы палочкоядерные в 1 мкл	I	2840 ± 1349	2847 ± 1397	0,991
	II	804 ± 667***	343 ± 189*	0,091
Нейтрофилы сегментоядерные, %	I	64,6 ± 8,3	64,1 ± 7,6	0,903
	II	57,27 ± 8,30*	59,6 ± 6,7	0,530
Нейтрофилы сегментоядерные в 1 мкл	I	10176 ± 2185	9794 ± 4188	0,779
	II	4058 ± 2278***	3648 ± 1558*	0,672
Нейтрофилы, %	I	82,47 ± 6,20	81,9 ± 5,2	0,825

	II	68,0 ± 9,1***	65,3 ± 7,9*	0,508
Нейтрофилы в 1 мкл	I	13016 ± 2593	12642 ± 5281	0,824
	II	4863 ± 2911***	3991 ± 1661*	0,472
Лимфоциты, %	I	9,4 ± 5,6	9,9 ± 3,2	0,843
	II	21,27 ± 5,50***	27,6 ± 5,8*	0,023
Лимфоциты в 1 мкл	I	1419 ± 754	1374 ± 475	0,889
	II	1382 ± 542	1601 ± 428	0,360
Моноциты, %	I	7,0 ± 3,1	7,3 ± 3,9	0,854
	II	7,93 ± 5,80	4,6 ± 2,7	0,165
Моноциты в 1 мкл	I	1145 ± 633	1186 ± 880	0,904
	II	547 ± 416***	282 ± 187*	0,126
Эозинофилы, %	I	0,93 ± 1,20	1,0 ± 0,8	0,890
	II	2,33 ± 1,5**	2,3 ± 1,3	0,943
Эозинофилы в 1 мкл	I	124 ± 159	125 ± 115	0,990
	II	154 ± 120	126,0 ± 52,1	0,556
$CD3^+$- лимфоциты, %	I	50,47 ± 11,20	49,9 ± 16,0	0,918
	II	49,53 ± 14,10	62,3 ± 7,1*	0,036
$CD3^+$- лимфоциты в 1 мкл	I	724 ± 522	710,0 ± 357,5	0,949
	II	663 ± 247	994,0 ± 257,6*	0,009
$CD20^+$- лимфоциты, %	I	12,6 ± 4,8	12,3 ± 3,8	0,880
	II	18,67 ± 4,90***	11,6 ± 4,1	0,003
$CD20^+$- лимфоциты в 1 мкл	I	162,0 ± 66,3	170 ± 80,4	0,809
	II	252,0 ± 99,9**	185,0 ± 80,2	0,132
IgM, г/л	I	1,6 ± 0,6	1,6 ± 0,8	0,917
	II	2,12 ± 0,70**	2,0 ± 0,8	0,662
IgG, г/л	I	11,76 ± 2,30	11,7 ± 5,9	0,969
	II	14,78 ± 4,10**	16,7 ± 7,8*	0,449
IgA, г/л	I	2,13 ± 0,90	2,6 ± 1,8	0,372
	II	2,64 ± 0,90**	3,4 ± 1,5	0,143
Фгоцитарный индекс, %	I	54,73 ± 9,10	54,1 ± 10,0	0,892
	II	54,4 ± 8,0	63,7 ± 11,2	0,037
Фагоцитарное число	I	3,67 ± 0,80	3,5 ± 0,5	0,054
	II	3,75 ± 0,60	3,6 ± 0,3	0,047

$CD4^+$- лимфоциты, %	I	31,2 ± 8,5	31,6 ± 9,9	0,929
	II	29,07 ± 8,80	39,6 ± 5,5*	0,009
$CD4^+$- лимфоциты в 1 мкл	I	441 ± 295	456 ± 237	0,910
	II	389 ± 151	628 ± 152	0,003
$CD8^+$- лимфоциты, %	I	21,6 ± 5,1	21,0 ± 5,4	0,804
	II	24,53 ± 5,90*	23,0 ± 3,9	0,539
$CD8^+$- лимфоциты в 1 мкл	I	315 ± 255	294 ± 131	0,845
	II	328 ± 118	374 ± 138	0,434
$CD4^+$/ $CD8^+$	I	1,49 ± 0,40	1,5 ± 0,2	0,967
	II	1,21 ± 0,30*	1,8 ± 0,3	0,001

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

Разнонаправленными были изменения в субпопуляционном составе Т-клеток. Если при стандартном лечении увеличивалось относительное число цитотоксических клеток на фоне намечающейся тенденции к снижению относительного и абсолютного содержания Т-хелперных клеток, то при использовании цитокинов увеличивалось число Т-хелперов при сохранении содержания цитотоксических клеток на первоначальном уровне. В результате данных изменений в субпопуляционном составе Т-клеток иммунорегуляторный индекс больных, леченных цитокинами, становился существенно выше, чем в группе сравнения. На фоне стандартного лечения происходила дальнейшая активация гуморального иммунного ответа (увеличение абсолютного числа В-лимфоцитов, повышение уровней сывороточных иммуноглобулинов – IgM, IgG и IgA), а на фоне цитокинотерапии отмечалось повышение лишь одного класса иммуноглобулинов – IgG. Таким образом, на фоне комбинированной цитокинотерапии происходило повышение исходно сниженных показателей клеточного звена адаптивного иммунитета и некоторое повышение IgG. При стандартном методе лечения усугубляется депрессия клеточного иммунного ответа и усиливается функция исходно активированного гуморального иммунного ответа. Фагоцитарный индекс нейтрофилов к концу лечения у больных, получавших цитокины, достоверно превышал аналогичный показатель группы сравнения. В табл. 2 представлены результаты изменения цитокинового профиля под влиянием комбинированной цитокинотерапии в сравнении с таковыми при обычном традиционном лечении. В процессе сочетанной цитокинотерапии, в отличие от стандартной терапии, повышались уровни ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-10 и ФНОα и не изменялся уровень ИФН-γ.

Таблица 2

Изменение показателей цитокинового профиля у больных под влиянием комбинированной цитокинотерапии

Вид цитокина		Традиционное лечение n=30	Традиционное лечение + ронколейкин + беталейкин n = 30	p<
		M ± SD	M ± SD	
ИЛ-1β	I	80 ± 68	88 ± 70	NS
	II	184 ± 118**	250 ± 351*	NS
ИЛ-2	I	5,3 ± 3,1	6,2 ± 3,5	NS
	II	12,0 ± 16,7	105 ± 198*	0,05
ИЛ-4	I	2,6 ± 4,2	2,1 ± 3,2	NS
	II	3,8 ± 13,1	5,9 ± 11,0	NS
ИЛ-6	I	45 ± 41	53 ± 43	NS
	II	29,9 ± 33,4	72,4 ± 103,0	NS
ИЛ-8	I	180 ± 151	208 ± 94	NS
	II	171 ± 115	445 ± 409*	0,05
ИЛ-10	I	4,4 ± 4,0	4,9 ± 3,2	NS
	II	6,7 ± 9,3	18,2 ± 22,4*	0,05
ФНОα	I	1,6 ± 4,4	1,3 ± 2,7	NS
	II	0,5 ± 1,4	4,6 ± 2,1***	0,001
ИФН-γ	I	57 ± 58	54 ± 51	NS
	II	204 ± 289*	101 ± 181	NS
РА- ИЛ-1β	I	502 ± 402	540 ± 320	NS
	II	324 ± 490	457 ± 362	NS
ИЛ-1β+ИЛ-2 / ИЛ-4+ИЛ-10	I	2,8 ± 2,5	2,5 ± 2,7	NS
	II	3,80 ± 1,35	14,7 ± 12,2***	0,001

Прим.: цифрой I обозначен показатель до лечения, цифрой II – после проведенного лечения; p – достоверность различия показателей в группах; звездочками обозначена достоверность различия значений показателей в динамике под влиянием лечения по парному критерию Стьюдента (* – p< 0,05; ** – p< 0,01; *** – p< 0,001).

В результате произошедших изменений в продукции цитокинов, в группе больных, получавших два рекомбинантных цитокина, конечные уровни ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-10 и ФНОα оказались достоверно выше. В этой же группе конечное значение отношения ИЛ-1β+ИЛ-

2/ИЛ-4+ИЛ-10 было значительно выше по сравнению с соответствующим показателем группы пациентов, получавших традиционную терапию.

Выводы. В группе больных, получавших сочетанную цитокинотерапию беталейкином и ронколейкином, происходило повышение исходно сниженных показателей клеточного звена адаптивного иммунитета, однако повышалась концентрация лишь одного класса иммуноглобулинов – IgG, в то время как в сравниваемой группе пациентов повышались уровни IgM, IgG и IgA. При сочетанной цитокинотерапии было более выраженным уменьшение абсолютного числа палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов, а также относительного и абсолютного значения содержания В-лимфоцитов. При этом относительное число Т-хелперов и $CD95^+$-клеток, а также концентрация ЦИК превышали аналогичные показатели в группе с использованием лишь одного цитокинового препарата. При применении сочетанной цитокинотерапии происходило уменьшение признаков воспаления и снижение явлений интоксикации, выраженные в улучшении состояния больных. Полученные данные позволяют рекомендовать сочетанную цитокинотерапию для лечения больных с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями лица и шеи.

Список литературы

1. Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области и шеи / под ред. проф. А. Т. Шаргородского. – М.: Медицина, 1985. – С.66-98.

2. Гриневич Ю. А., Алферов А. Н. Определение иммунных компонентов в крови онкологических больных // Лабораторное дело. – 1981. – №8. – С.493-496.

3. Губин М. А., Лазутиков О. В. Лунев Б. В. Современные особенности лечения гнойных заболеваний лица и шеи // Стоматология. –1998. – №5. – С.15-17.

4. Порфириадис М. П., Сашкина Т. И., Шулаков В. В. Роль вторичной иммунной недостаточности в возникновении гипергического воспаления в челюстно-лицевой области // Рос. стоматол. журн. – 2007. – № 3. – С . 35-37.

5. Робустова Т. Г. Хирургическая стоматология. – М.: Медицина, 2003. – С. 157-158.

6. Mancini G., Carbonata A. O., Heremans J. F. // Immunochemistry. – 1965. – Vol. 2. – P. 235-254.

Рецензенты:

Мадянов Игорь Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии и семейной медицины АУ Чувашии «Институт усовершенствования врачей», г. Чебоксары.

Фаттахов Василь Валиевич, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой клинической анатомии и амбулаторно-поликлинической хирургии Казанской медицинской академии, г. Казань.