

# ИММУННЫЙ СТАТУС ТЯЖЕЛООБОЖЖЕННЫХ НА ФОНЕ ТРАДИЦИОННОГО ЛЕЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

С. И. Шукуров

Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи,  
г. Ташкент, Республика Узбекистан

**В** статье предлагаются результаты исследования эффективности иммунокорригирующей терапии препаратом Ронколейкин®. Изучена динамика иммунного статуса 34 больных с тяжелой термической травмой, оцененной по индексу Франка свыше 60 баллов. Показано, что состояние иммунной системы тяжелообожженных характеризуется признаками иммунодепрессии: снижением относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов и дисбалансом основных иммунорегуляторных субпопуляций Т-хелперных/Т-супрессорных клеток за счет увеличения последних, G-гипоглобулинемией. На этом фоне иммунотерапия препаратом Ронколейкин® способствует улучшению показателей иммунного статуса у больных независимо от характера и степени этих нарушений.

Ключевые слова: иммунный статус, индекс Франка, интерлейкин-2, Ронколейкин®, термическая травма

**T**he efficiency results of immunomodified therapy with Roncoleukin® are offered. The dynamics of the immune condition of 34 patients with the severe thermal trauma estimated according to Franc's index over 60 points has been studied. The condition of immune system of patients with severe burns is showed to be characterized by the signs of immune depression: by reducing the relative and absolute T-lymphocytes content, by disbalance of the basic immune regulative subpopulations of T-helper/T-suppressor cells due to the increase of the latter and by G-hypoglobulinemiae. Against this background the immune therapy with Roncoleukin® promotes improvement of the immune condition indices of patients irrespective of the nature and degree of these disorders.

Keywords: immune condition, Franc's index, interleukin-2, Roncoleukin®, a thermal trauma

Утверждение, что инфекция - это неизбежное последствие ожогов, на сегодняшний день, к сожалению, находит свое подтверждение в каждодневной практике комбустиологов. Во многих ожоговых центрах 80-85% смертельных исходов при тяжелых термических повреждениях наступает прежде всего по причине развития сепсиса [5]. Ожоговая рана создает благоприятную флору для колонизации ее микроорганизмами эндогенного и экзогенного происхождения, так как при термической травме нарушается локальный кожный барьер, изменяя ее нормальное состояние, наступает ишемия тканей с нарушением поступления факторов защиты, супрессия гуморального и клеточного иммунитета вплоть до депрессии [4; 6].

Решение проблем инфекции в комбустиологии на современном этапе связано с оптимизацией методов ранней некрэктомии, разработкой новых форм антибактериальных препаратов, а также разработкой мер иммунопрофилактики. Особо следует отметить возросший интерес исследователей и клиницистов к иммунотерапии, что, несомненно, обусловлено развитием новых молекулярных подходов в изучении механизмов иммунитета, а также возникновением генной инженерии и биотехнологии.

## Материал и методы

Проведены исследования динамики иммунологических параметров периферической крови - показателей популяции циркулирующих Т-лимфоцитов (CD3), Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), естественных клеток-киллеров (CD16), уровня сывороточных иммуноглобулинов основных классов - у 34 больных с тяжелой термической травмой, оцененной по индексу Франка свыше 60 единиц. Проведен анализ корреляционной связи эффективности иммунокорректирующей терапии препаратом Ронколейкин® с изменениями в иммунном статусе.

## Результаты и обсуждение

Анализ иммунологического статуса больных с тяжестью термической травмы свыше 60 единиц до проведения некрэктомии и применения иммунокорректирующей терапии обнаружил глубокий дефицит клеточного звена иммунитета, который выражался в снижении общего пула лимфоцитарной популяции. Относительное число лимфоцитов в основной группе составило в среднем  $19,6 \pm 1,9\%$  против  $29,5 \pm 1,7\%$  в среднем в группе здоровых доноров ( $P < 0,001$ ) (табл. 1). Размах индивидуальных колебаний числа лимфоцитов в основной группе больных составил от 11 до 24%. Статистически значимо различались и абсолютные показатели общего

числа лимфоцитов в периферической крови больных и составили в среднем на группу  $1685 \pm 145$  в 1 мкл с индивидуальными колебаниями от 940 до 2070 клеток в 1 мкл. В группе контроля (здоровые доноры) абсолютное число лимфоцитов было статистически значимо выше и составило в среднем  $2240 \pm 219$  клеток в 1 мкл (табл. 2).

Сниженные значения общего пула лимфоцитов - основных клеток, регулирующих иммунный ответ, отразились и на недостаточной продукции специфических рецепторов, характеризующих определенные фенотипы иммунокомпетентных клеток, которые косвенно отражают их функциональные параметры. Анализ клеточного звена иммунитета показал глубокий дефицит числа Т-лимфоцитов с рецепторами CD3, выражающийся в диспропорции основных иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Статистически значимо различалось количество Т-лимфоцитов у больных с данными группы контроля. Различия затронули как относительные, так и абсолютные параметры клеточного иммунитета, которые отражают истинный иммунодефицит в системе. Число CD3 лимфоцитов в основной группе было в 1,5 раза ниже, чем в норме, и составило  $41,6 \pm 2,4\%$  против  $62,1 \pm 2,4\%$  соответственно ( $P < 0,001$ ).

Для определения частоты отклонения от нормы использовался показатель процента положительных проб (% п.п.), характеризующий отклонение изученных параметров индивидуально у больного в сравнении с нормой. В наших исследованиях у 53% пациентов основной группы был выявлен дефицит CD3-лимфоцитов.

У больных с тяжелой ожоговой травмой при поступлении в период септикотоксемии было обнаружено пониженное количество Т-хелперов (CD4) - основных иммунорегуляторов популяции Т-лимфоцитов, которые посредством выработки интерлейкинов в комплексе с макрофагами запускают целую сеть межклеточных взаимодействий иммунного ответа. Значение этого показателя в основной группе составило  $18,8 \pm 1,2\%$  с размахом индивидуальных значений от 10 до 27% против  $37,61 \pm 1,7\%$  в среднем на группу здоровых доноров. Такой глубокий дефицит основной популяции Т-лимфоцитов свидетельствует о неполноценном развитии иммунного ответа в организме обследованных.

Иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8) сдвинулся в сторону значительной активации экспрессии CD8-рецепторов Т-лимфоцитов и составил  $0,6 \pm 0,09$  против  $1,6 \pm 0,1$  в контроле.

На фоне относительного и абсолютного дефицита общего числа Т-лимфоцитов, несущих CD3-рецепторы, отмечен рост числа клеток с маркерами CD8, характерными для супрессорной популяции, и эти значения со-

## Основные параметры иммунного статуса у обожженных с индексом Франка свыше 60 единиц в сравнении с группой здоровых (относительные значения, %)

Т а б л и ц а 1

Показатели	Обожженные (n=34)		Здоровые доноры (n=25)		
	p	±m	% п.п.	p	±m
1. Лимфоциты	19,6	1,9		29,5	1,7
2. CD3-лимфоциты	41,6	2,4	(-2σ) 53	62,1	2,4
3. CD4-лимфоциты	18,8	1,2	(-2σ) 100	37,6	1,7
4. CD8-лимфоциты	32,1	1,3	(+2σ) 100	23,9	1,5
5. Индекс иммунорегуляции (CD4/CD8)	0,6	0,09	(-2σ) 100	1,6	0,1
6. CD16-лимфоциты	6,7	0,8	(-2σ) 79	9,2	0,8
7. В-лимфоциты	22,9	2,2	(-2σ) 43	26,7	1,5

## Основные параметры иммунного статуса у обожженных с индексом Франка свыше 60 единиц в сравнении с группой здоровых до комплексного лечения (абсолютные значения, в 1 мкл)

Показатели	Обожженные (n=34)		Здоровые доноры (n=25)	
	X	±m	X	±m
1. Лейкоциты	8636	690	7574	663
2. Лимфоциты	1685	145	2240	219*
3. Т-лимфоциты (CD3)	784,2	106	1385	115*
4. Т-хелперы (CD4)	320,1	29,5	846	77,4 *
5. Т-супрессоры (CD8)	550,5	64,8	505	49,7
6. В-лимфоциты (Ig-R)	349,5	68,5	558,2	43,7
7. Естественные клетки-киллеры (CD16)	115,4	9,7	211	18,6 *

**Примечание:** \* - статистически значимые различия с группой здоровых доноров ( $P < 0,001$ )

ставили  $32,1 \pm 1,3\%$  против  $23,9 \pm 1,5\%$  у здоровых доноров. Многочисленные данные литературы свидетельствуют об ингибирующем влиянии супрессорных клеток на blastogenesis лимфоцитов, а также на продукцию и активность цитотоксических лимфоцитов и естественных клеток-киллеров. Прогрессирование клиники септикотоксемии, несмотря на наличие цитотоксических лимфоцитов, может быть обусловлено супрессивным действием CD8-лимфоцитов.

Известно, что существует определенная взаимосвязь между активностью естественных клеток-киллеров и резистентностью организма к гноеродной инфекции. Биологическая роль естественных клеток-киллеров определяется их избирательной эффекторной функцией, способностью к лизису чувствительных микроорганизмов-мишеней, при этом основным этапом киллинга является повреждение клеточных мембран с помощью протеолитических ферментов азурофильных гранул. Механизм действия естественных киллеров подчиняется принципам иммунного контроля. Естественная клеточная цитотоксичность наблюдается у здоровых индивидуумов. В группе обследованных нами больных число естественных киллеров (CD16) было сниженным и составило  $6,7 \pm 0,8\%$  с размахом индивидуальных колебаний от 2 до 10% и статистически значимо различалась с данными контрольной группы -  $9,2 \pm 0,8\%$  ( $P < 0,05$ ).

Известно, что конечным этапом иммунного ответа является продукция иммуноглобулинов, которые синтезируются активированными В-лимфоцитами, трансформированными в плазматические клетки. Интегральным показателем активности гуморального звена иммунитета является число В-лимфоцитов и продукция иммуноглобулинов. В наших исследованиях относительное и абсолютное число В-лимфоцитов в среднем в основной группе оставалось в пределах нижней границы нормативных значений, не различаясь статистически значимо с показателями в группе здоровых доноров, и составило  $22,9 \pm 2,2$  против  $26,7 \pm 1,5\%$  соответственно. В основной группе больных был выявлен сниженный уровень IgG ( $P < 0,001$ ).

Таким образом, состояние иммунной системы тяжелообожженных (ИФ > 60 единиц) характеризуется признаками иммунодепрессии: снижением относительно и абсолютного содержания Т-лимфоцитов и дисбалансом основных иммунорегуляторных субпопуляций Т-хелперных/Т-супрессорных клеток за счет увеличения последних, G-гипоглобулинемией.

Расшифровка процесса клеточного и гуморального иммунитета позволила выявить и охарактеризовать значительное количество цитокинов, которые оказались неотъемлемыми модуляторами иммунного ответа [1]. Связываясь со специфическими рецепторами на мембране клеток-мишеней, они влияют на гемопоэз, пролиферацию, дифференцировку, активацию и хемотаксис клеток, а также их гибель. Поэтому неудивительно, что использование цитокинов в качестве иммунных препаратов открывает большие перспективы для клиницистов [2; 3].

Благодаря технологиям генной инженерии получены препараты из группы цитокинов, в том числе интерлейкин-2 (ИЛ-2), который находит широкое применение в качестве иммуномодулятора. ИЛ-2 относится к ключевым цитокинам, определяющим инициацию и развитие специфического иммунного ответа. Нами использовался Ронколейкин®, который представляет собой инъекционную форму рекомбинантного интерлейкина-2 (rИЛ-2) человека. Поэтому представляют интерес возможности Ронколейкина® в устранении иммунодефицита у больных с термической травмой.

Результаты исследования показали четкую тенденцию к нормализации иммунологических показателей (табл. 3). Увеличилось относительное и абсолютное число Т-лимфоцитов (CD3) и составило  $50,6 \pm 1,4\%$  и  $1016 \pm 113$  против  $46,1 \pm 2,2\%$  и  $848,1 \pm 95$ /мкл ( $P < 0,001$ ,  $P < 0,001$ ) в группе больных, не получавших Ронколейкин®. Однако в среднем на группу значение числа Т-лимфоцитов не достигало показателей нормы. Необходимо подчеркнуть, что под влиянием иммунотерапии Ронколейкином® число больных с дефицитом Т-лимфоцитов (CD3) сократилось в 1,5 раза и составило 29%, тогда как в группе больных без применения иммунокорректора после операции оно сократилось до 38% против 43% до лечения.

Если дефицит числа Т-хелперов/индукторов (CD4) до начала лечения определялся у 100% больных, то после курса иммунотерапии препаратом Ронколейкин® он выявлен у 57% и различался в 1,8 раза. В группе сравнения - число больных с дефицитом Т-хелперов сократилось до 75%. Несмотря на статистически значимый прирост количества CD4 клеток в среднем на группу ( $P < 0,001$ ) в сравнении с данными до лечения, число их на момент обследования не достигало показателей нормы. В группе больных, подвергшихся только традиционному лечению, статистически значимой разницы между значениями этих показателей до и после комплексной терапии не отмечено.

## Динамика иммунологических параметров у обожженных с ИФ свыше 60 единиц в процессе традиционного и иммуномодулирующего лечения

Показатель	До лечения (n=40)		После лечения			
			ТЛ (n= 20)		ТЛ + ИМ (n=20)	
	X	±m	X	±m	X	±m
Лейкоциты, абс.	8636	690	8974	76,3	8837	622
Лимфоциты, отн.	19,6	1,9	20,5	1,8	22,9	1,2 *
Т-лимфоциты CD3, отн. абс.	41,6 784,2	2,4 106	46,1 848,1	2,2 95	50,6 1016	1,4 * 113 *
Т-хелперы (CD4), отн.	18,8	1,2	21,3	1,1	26,8	1,3 *
Т-супрессоры (CD8), отн.	32,1	1,3	30,9	1,5	27,6	1,0 *
Индекс иммунорегуляции (CD4/CD8)	0,6	0,09	0,7	0,08	1,0	0,03 *
Естественные клетки-киллеры (CD16), отн.	6,7	0,8	7,5	1,3	12,5	1,0 *
В-лимфоциты (Ig-R), отн. абс.	22,9 349,5	2,2 68,5	24,9 458,2	1,9 53,6	23,7 504,2	1,6 39,2
IgG, мг%	875,9	47,5	890,3	50,6	1091	81,7 *
IgA, мг%	173,8	15,3	210,8	23,8*	195,1	16,3 *
IgM, мг%	119,4	9,5	130,1	18,1	105,1	4,5

**Примечание:** \* - статистическая значимость различий с группой до операции;  
ТЛ - традиционное лечение; ТЛ + ИМ - традиционное лечение + иммунотерапия

Относительное значение Т-супрессоров снизилось до  $27,6 \pm 1,0\%$  после проведения комплексного лечения ( $P < 0,05$ ). В группе больных, не получавших иммунокоррекцию, отмечено некоторое снижение этого показателя, однако в среднем статистически значимых изменений в сравнении с данными до лечения не отмечено, хотя процент положительных проб здесь сократился до 88%.

В сравнении с показателями до лечения повысилось число естественных клеток-киллеров у больных, получавших Ронколейкин®, и составило  $12,5 \pm 1,0\%$  против  $6,7 \pm 0,8\%$  ( $P < 0,001$ ). А на фоне традиционного лечения среднее количество этих клеток повысилось только до уровня  $7,5 \pm 1,3$ .

Сравнение данных с результатами, полученными в группе больных после традиционного лечения, статистически значимых изменений в содержании естественных клеток-киллеров не выявило.

Не выявлено статистически значимых различий динамики относительного и абсолютного числа В-лимфоцитов в процессе лечения в обеих группах сравнения независимо от вида лечения. Это очевидно связано с тем, что изначально до терапии не было отмечено статистически значимых отклонений от данных группы здоровых доноров.

Под влиянием иммунотерапии препаратом Ронколейкин® отмечено повышение продукции IgG ( $P < 0,05$ ). Почти в два раза увеличилось количество больных с нормальным уровнем синтеза IgG.

Статистически значимо повысилась продукция IgA под влиянием как комплексного, так и традиционного лечения у обследованной группы больных. Это, очевидно, связано с активацией секреторных компонентов иммунной системы, которые регулируют местный иммунитет на слизистых.

Полученные результаты позволяют считать, что в развитии гнойно-септических осложнений существенную роль играет состояние клеточного и гуморального иммунитета. Применение иммунотерапии в комплексном лечении обожженных позволяет провести коррек-

цию иммунной недостаточности, сократить число гнойно-септических осложнений, снизить летальность.

Таким образом, иммунотерапия препаратом Ронколейкин® способствует улучшению показателей иммунного статуса у больных независимо от характера и степени этих нарушений. Очевидно, по причине природного происхождения Ронколейкина®, представляющего собой рекомбинантный интерлейкин-2 (рИЛ-2) человека, он обладает свойствами истинного иммунокорректора, который повышает сниженные показатели иммунитета, а повышенные - снижает. Так, при ожогах с ИФ более 60 единиц повышенное число Т-супрессоров снижается в группе, получавших комплексное лечение с применением Ронколейкина®, тогда как этот показатель остается неизменным в группе сравнения у больных, подвергшихся только традиционному лечению. Применение иммунотерапии способствует значительному сокращению числа больных с отклонениями от нормативных значений (процента положительных проб).

### Список литературы

1. Кетлинский, С.А. Эндогенные иммуномодуляторы. / С.А. Кетлинский, С.С. Симбирцев, А.А. Воробьев. - СПб: Гиппократ. - 1992. - 256 с.
2. Кетлинский, С.А. Иммунология для врача. / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина. - СПб: Гиппократ. - 1998. - 156 с.
3. Фрейндлин, И.С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей. - СПб: НТФФ "Полисан". - 1998. - 113 с.
4. Diem, E. Infections in Burns. Abstr. 7th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria. March 26-30, 1995, abs. 77, p. 15.
5. Miller, C.L. Burns and the Immune Network. The J. of Trauma, 1979, 19, 11, p. 880-883.
6. Pruitt, B. A., Jr., McManus A. T., Kim, S. H., Goodwin, C. W. Burn Wound Infections: current status World J. Surg. 22:135-145 (1998).