

ОПТИМИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛИЦА И ШЕИ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ ИММУНОЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА

Сидорова О. А.¹, Сидоров И. А.¹, Добров А. В.¹, Белопухов В. М.²,

¹ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», медицинский факультет. Чебоксары, Россия (428000, Чебоксары, Московский проспект 45) e-mail: ivansv68@yandex.ru

²ФГБОУ ВПО «Казанская медицинская академия последипломного образования Минздрава России» (г. Казань, ул. Муштару 11). e-mail: kma@mi.ru

Результаты обследования 100 больных показали, что у 60 пациентов с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями лица и шеи развивалась вторичная иммунная недостаточность, в связи с низкой продукцией ИЛ-2 иммунокомпетентными клетками. Из литературных источников известно, что основной причиной низкой выработки ИЛ-2 является снижение количества Т-лимфоцитов в периферической крови при гнойно-септических процессах. Для восстановления эндогенного ИЛ-2 мы использовали рекомбинантный цитокинсодержащий препарат – ронколейкин. При использовании ронколейкина происходило параллельное снижение продукции провоспалительных цитокинов и противовоспалительных факторов. В группе больных, получавших ронколейкин, произошли существенные изменения в иммунном ответе, в сторону повышения исходно сниженных показателей клеточного механизма адаптивного иммунного ответа, стимуляции фагоцитарной активности нейтрофилов, а также – снижения концентрации ЦИК, практически достигавших уровней здоровых. Положительная иммунологическая динамика на фоне включения в традиционное лечение ронколейкина сочеталась выраженным клиническим эффектом: уменьшились показатели пребывания на стационарной койке на 5,5 дней, летальности на – 4 %.

Ключевые слова: гнойно-воспалительные заболевания, интерлейкины, иммуноцитокинный статус.

OPTIMIZATION OF COMPLEX TREATMENT OF HEAVY PYOINFLAMMATORY DISEASES OF THE FACE AND NECK ON THE BASIS OF AN ESTIMATION IMMUNOCYTOKINES THE STATUS

Sidorova O. A.¹, Sidorov I. A.¹, Belopukhov V. M.², Dobrov A. V.¹

¹FSBEI HPE "Chuvash State University n.a. I. N. Ulyanov", faculty of medicine. Cheboksary, Russia (42800, Cheboksary, Moskovsky Avenue 45) e-mail: ivansv68@yandex.ru

²FSBEI HPE «Kazan medical academy of postdegree formation of the ministry of public health and social development of Russia

The results of examination of 100 patients showed that 60 patients with heavy face and neck pyo-inflammatory diseases have a progressing secondary immune deficiency due to low IL-2 production of immunocompetent cells. It is known from literary sources that in case of purulent-septic process the principal reason of low IL-2 production is a decrease of T – lymphocytes amount in peripheral blood. We used recombinant cytokine containing– ronkoleukin for a recovery of endogenous IL-2. During the usage of ronkoleukin there was a parallel production decrease of anti-inflammatory cytokines and anti-inflammatory factors. The group of people, treated with ronkoleukin, faced the essential changes in the immune response towards an increase of initially low rates of cellular mechanism of adaptive immune response, towards an agitation of phagocytic activity of neutrophils and an impoverishment of CIC of patients who were almost healthy. A traditional treatment with the help of ronkoleukin caused an immunological improvement that was accompanied by an apparent clinical effect: the rates of hospital stay were reduced to 5,5 days, the case fatality rate went 4 % down.

Keywords: pyoinflammatory diseases, interleukines, immunocytokines status.

Введение

Лечение гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) лица и шеи продолжает оставаться одной из актуальных проблем неотложной хирургии. Это объясняется, с одной стороны, значительным количеством больных с этими заболеваниями, которые составляют 10–20 % хирургических больных, обращающихся в стоматологические поликлиники и около

50 % больных, находящихся на лечении в челюстно-лицевых стационарах; с другой – тем, что имеет место неуклонный рост прогрессирующих флегмон, распространяющихся подчас на несколько клетчаточных пространств и приводящих к таким грозным осложнениям, как медиастинит, тромбоз кавернозного синуса твердой мозговой оболочки и сепсис [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 дезинтоксикационных, общеукрепляющих средств [1, 3].

Существующие методы иммунокоррекции при ГВЗ лица и шеи ориентированы преимущественно на местное воздействие на раневую область.

Малоэффективность существующих методов лечения, высокая смертность из-за генерализации инфекционного процесса на фоне нарушенной иммунореактивности при рассматриваемой патологии побудили к поиску более эффективных методов лечения, направленных на восстановление иммунных расстройств на системном уровне. В этой связи наше внимание привлек препарат с иммунорегулирующими свойствами – рекомбинантный аналог нативного интерлейкина-2 – ронколейкин.

Цель исследования – оценить эффективность комплексного лечения больных тяжелыми флегмонами лица и шеи, состоящего из комбинации хирургического и консервативного методов лечения с применением цитокинотерапии ронколейкином.

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 2002 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 АРАСНЕ более 12 баллов).

Помимо общепринятых методов клинико-лабораторного исследования, больным проводили определение показателей иммуноцитокриновой 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 – интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-8, ИЛ-10, фактора некроза опухоли- α (ФНО α), интерферона- γ (ИФН- γ), рецепторного антагониста ИЛ-1 β (РА-ИЛ-1 β) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Цитокин», Санкт-Петербург) в соответствии с прилагаемой к набору методикой. В качестве контрольных показателей использовали результаты исследования иммуноцитокинового статуса 40 практически здоровых лиц. Группы больных и здоровых были репрезентативны по возрастному, половому составу и социальному статусу обследованных.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием компьютерной программы STATISTICA for Windows 6,0. Данные представляли в виде $M \pm SD$, где M – средняя арифметическая, SD – среднее квадратичное отклонение. Достоверность различий между изучаемыми выборками по анализируемому показателю оценивали по параметрическому t-критерию Стьюдента.

По результатам оценки иммуноцитокинового статуса выделяли 2 клинические группы 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, рекомбинантный цитокин – ронколейкин. 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).

В обеих подгруппах проводилось комплексное лечение, включающее вскрытие флегмоны, а также – антибактериальную, дезинтоксикационную, общеукрепляющую и физиотерапию.

Результаты и обсуждение

Средние значения показателей цитокинового статуса у больных ГВЗ лица и шеи заметно отличались от таковых у здоровых лиц (табл. 1). В частности, у больных были повышены уровни ИЛ-1 β , РА-ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 на фоне снижения – ИЛ-4.

Таблица 1

Показатели цитокинового профиля у больных
ГВЗ лица и шеи в сравнении со здоровыми лицами

Цитокин	Здоровые (n=40)	Больные (n=100)	p
	M±SD	M±SD	
ИЛ-1β, пг/мл	1,4±2,9	104,6±30,5	0,0000
ИЛ-2, пг/мл	5,3±5,6	16,3±13,8	0,0304
ИЛ-4, пг/мл	6,24±7,4	2,3±2,6	0,0023
ИЛ-6, пг/мл	3,5±2,8	47,9±44,2	0,0002
ИЛ-8, пг/мл	13,7±4,0	193,2±77,9	0,0000
ИЛ-10, пг/мл	0,1±0,3	8,1±5,6	0,0000
ФНОα, пг/мл	0,8±1,2	3,1±8,6	NS
ИФН-γ, пг/мл	50,0±39,7	79,5±93,7	NS
РА-ИЛ-1β, пг/мл	75,2±47,6	616,6±582,5	0,0120

Примечание: здесь и далее в таблицах NS – различие не достоверно (p>0,05).

Анализ индивидуальных значений сывороточных уровней цитокинов в исследованной группе больных показал, что более половины больных ГВЗ лица и шеи имели уровни ИЛ-2, не превышавшие верхнего предела (17,9 пг/мл) референсных значений, определенных в интервале 10–90 перцентилей частностей выборки здоровых. С целью изучения того, как влияет на продукцию других цитокинов различие в продукции ИЛ-2, мы разделили всю группу больных на две подгруппы: 1) с уровнем ИЛ-2 выше 17,9 пг/мл и 2) с уровнем ИЛ-2 ниже 17,9 пг/мл. Сравнительный анализ этих подгрупп выявил в подгруппе с недостаточно активной выработкой ИЛ-2 сниженную продукцию ИФН-γ и повышенную – ФНОα и ИЛ-10 (табл. 2).

Таблица 2

Показатели цитокинового профиля групп больных с ГВЗ лица и шеи, различающихся по уровню концентрации ИЛ-2

Цитокин	ИЛ-2<17,9 пг/мл	ИЛ-2>17,9 пг/мл	p
	n=60	n=40	
	M±SD	M±SD	
ИЛ-1β, пг/мл	83,4±79,7	166,5±205,6	NS
ИЛ-2, пг/мл	5,8±3,4	85,6±106,0	0,0001
ИЛ-4, пг/мл	2,3±6,2	0,2±0,4	NS
ИЛ-6, пг/мл	41,3±57,5	74,8±65,4	NS

ИЛ-8, пг/мл	174,1±146,5	270,9±168,6	NS
ИЛ-10, пг/мл	39,6±74,2	4,8±4,1	0,0077
ФНОα, пг/мл	10,4±22,5	1,4±4,3	0,0320
ИФН-γ, пг/мл	54,5±69,3	193,1±160,2	0,0497
РА-ИЛ-1β, пг/мл	510,8±69,3	681,0±710,7	NS

Таким образом, иммунный статус пациентов с низким уровнем продукции ИЛ-2 характеризуется четко очерченными признаками угнетения клеточного механизма адаптивного иммунитета, что позволяет характеризовать данный вид Т-клеточного иммунного расстройства как ИЛ-2-зависимую клеточную иммунную недостаточность. На следующем этапе исследования проведена сравнительная оценка иммунологических показателей двух групп больных – леченных 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 эозинофильных клеток (табл. 3).

Таблица 3

Динамика показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных под влиянием лечения ронколейкином и традиционным методом

Показатель		Традиционное лечение	Традиционное лечение + ронколейкин	p
		n=30	n=30	
		M±SD	M±SD	
Лейкоциты	I	15746±2667	15400±6180	0,8433
	II	6953***±3405	7126***±3573	0,8927
Нейтрофилы палочкоядерные, %	I	17,87±7,63	18,27±7,00	0,8822
	II	10,73***±3,37	10,33*±9,92	0,8834
Нейтрофилы палочкоядерные в 1 мкл	I	2840±1349	2830±1784	0,9858
	II	804***±667	868***±1087	0,8484
Нейтрофилы сегментоядерные, %	I	64,60±8,27	64,33±9,51	0,9352
	II	57,27*±8,32	54,20±13,56	0,4614
Нейтрофилы сегментоядерные в 1 мкл	I	10176±2185	991±3934	0,8218
	II	4058***±2278	3882***±2631	0,8457

Нейтрофилы %	I	82,47±6,21	82,60±8,30	0,9606
	II	68,00***±9,13	64,53**±12,29	0,3879
Нейтрофилы в 1 мкл	I	13016±2593	12742±5214	0,8564
	II	4863***±2911	4750***±3299	0,9215
Лимфоциты, %	I	9,40±5,55	9,33±4,24	0,9707
	II	21,27***±5,51	28,07***±4,04	0,0006
Лимфоциты в 1 мкл	I	1419±753	1436±894	0,9548
	II	1382±542	1934*±878	0,0477
Моноциты, %	I	7,00±3,07	5,60±2,77	0,2006
	II	7,93±5,82	7,27±4,85	0,7358
Моноциты в 1 мкл	I	1145±633	990±831	0,5697
	II	547***±416	508±384	0,7918
Эозинофилы, %	I	0,93±1,21	0,93±0,80	0,9900
	II	2,33**±1,50	2,13**±1,51	0,7178
Эозинофилы в 1 мкл	I	124±159	146±142	0,6927
	II	154±120	131±103	0,5761
CD3 ⁺ - лимфоциты, %	I	50,47±11,15	50,60±8,68	0,9711
	II	49,53±14,05	58,33***±6,88	0,0379
CD3 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	724±522	732±479	0,9642
	II	663±247	1114**±476	0,0030
CD20 ⁺ - лимфоциты, %	I	12,60±4,76	13,67±7,29	0,638779
	II	18,67***±4,85	15,60±4,45	0,082021
CD20 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	162±66,2	191±144	0,487345
	II	252**±99,9	299**±141	0,308283
IgM, г/л	I	1,60±0,57	1,42±0,47	0,355096
	II	2,12**±0,70	1,95**±0,67	0,502403
IgG, г/л	I	11,76±2,35	10,14±2,37	0,071597
	II	14,78**±4,13	13,72*±4,46	0,501667
IgA, г/л	I	2,13±0,91	2,15±0,87	0,933627
	II	2,64**±0,85	2,78*±0,96	0,683511
Фгоцитарный индекс, %	I	54,73±9,13	54,00±8,91	0,825455
	II	54,40±7,99	61,07*±9,45	0,046096
Фагоцитарное число	I	3,67±0,79	3,56±0,78	0,694978

	II	3,75±0,58	3,84±0,66	0,671627
CD4 ⁺ - лимфоциты, %	I	31,20±8,50	30,73±9,00	0,884963
	II	29,07±8,84	35,13±5,54	0,032282
CD4 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	441±295	422±283	0,861209
	II	389±151	683**±360	0,007060
CD8 ⁺ - лимфоциты, %	I	21,60±5,11	22,80±5,93	0,557497
	II	24,53*±5,87	23,73±6,19	0,719160
CD8 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	315±254	327±206	0,886067
	II	328±118	456±228	0,063958
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	I	1,49±0,44	1,46±0,67	0,911707
	II	1,21*±0,32	1,57±0,47	0,020927

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

Происходила активация гуморального механизма адаптивного иммунного ответа: росли уровни основных трех классов иммуноглобулинов на фоне увеличения абсолютного числа В-клеток (CD20⁺). 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⁺), 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. В группе, получавших рекомбинантный цитокин – ИЛ-2, повысился исходно сниженный фагоцитарный индекс, который стал достоверно больше аналогичного показателя группы больных, пролеченных традиционными методами. Иммуномодулирующий эффект ронколейкина, проявившийся в отношении основных звеньев иммунной системы, сочетался существенным влиянием на динамику содержания

цитокинов (табл. 4). В частности у больных, получавших ронколейкин, в процессе лечения происходило достоверное снижение относительно исходных величин провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИФН- γ и противовоспалительных факторов – ИЛ-4 и РА- ИЛ-1 β . В то же время в группе больных, находившихся на традиционном лечении, росли уровни ИЛ-1 β и ИФН- γ , которые стали превышать средние значения подгруппы больных, получавших цитокинотерапию ронколейкином.

Таблица 4

Динамика показателей цитокинового профиля у больных под влиянием лечения ронколейкином и традиционным методом

Цитокин		Традиционное лечение	Традиционное лечение +ронколейкин	p<
		n=30	n=30	
		M \pm SD	M \pm SD	
ИЛ-1 β	I	80 \pm 68	84 \pm 73	NS
	II	184,4 \pm 118,5**	96,4 \pm 120,2	0,01
ИЛ-2	I	5,3 \pm 3,1	5,7 \pm 3,5	NS
	II	12,0 \pm 16,7	26,8 \pm 54,8	NS
ИЛ-4	I	2,6 \pm 4,2	2,4 \pm 3,8	NS
	II	3,8 \pm 13,1	0,5 \pm 0,7*	NS
ИЛ-6	I	45 \pm 41	49 \pm 36	NS
	II	29,9 \pm 33,4	18,2 \pm 14,7**	NS
ИЛ-8	I	180 \pm 151	210 \pm 101,5	NS
	II	171,3 \pm 115	149 \pm 100,4	NS
ИЛ-10	I	38,4 \pm 60,2	40,1 \pm 50,1	NS
	II	46,7 \pm 9,3	23,3 \pm 2,7	NS
ФНО α	I	1,6 \pm 4,4	1,9 \pm 3,4	NS
	II	10,5 \pm 1,4	10,9 \pm 2,8	NS
ИФН- γ	I	57 \pm 58	61 \pm 56	NS
	II	204,6 \pm 289*	18,1 \pm 28,9**	0.01
РА-ИЛ-1 β	I	502 \pm 402	540 \pm 370	NS
	II	324 \pm 490	490 \pm 259	NS
<u>ИЛ-1β+ИЛ-2</u>	I	2,8 \pm 2,5	2,1 \pm 2,2	NS

ИЛ-4+ИЛ-10	II	3,8±1,35	5,1±2,25***	0,05
------------	----	----------	-------------	------

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

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в процессе применения ронколейкина происходило параллельное снижение продукции провоспалительных цитокинов и противовоспалительных факторов, тогда как в сравниваемой группе еще продолжался синтез de novo провоспалительных цитокинов, свидетельствуя о том, что процесс активации цитокиновой системы еще не завершен. В группе больных, получавших ронколейкин, произошли существенные изменения в иммунном ответе, в сторону повышения исходно сниженных показателей клеточного механизма адаптивного иммунного ответа, стимуляции фагоцитарной активности нейтрофилов. В то же время в группе, получавших лечение по традиционной схеме, не произошло каких-либо существенных положительных изменений в клеточном типе адаптивного иммунитета, напротив, наблюдалось снижение иммунорегуляторного индекса за счет увеличения числа клеток с фенотипом CD8, квалифицируемое как дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Положительная иммунологическая динамика на фоне включения в традиционное лечение ронколейкина сочеталась выраженным клиническим эффектом: уменьшились показатели пребывания на стационарной койке на 5,5 дней, летальности – на 4 %.

Выводы:

1. Добавление иммуностропного препарата – ронколейкина в схему лечения тяжелых ГВЗ лица и шеи сопровождается выраженным клинико-иммунологическим эффектом.
2. Показанием для назначения ронколейкина при ГВЗ лица и шеи являются лабораторные признаки недостаточности клеточного звена иммунного ответа.

Список литературы

1. Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области и шеи / Под ред. 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.