

ЦИТОКИНОТЕРАПИЯ ПРИ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛИЦА И ШЕИ

Сидоров И.А.¹, Зыятдинов К.Ш.², Добров А.В.¹, Сидорова О.А.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. Муштары 11). e-mail: kma@mi.ru

В работе представлены результаты лечения двух групп больных с гипо-, анергическим течением тяжелой флегмоны лица и шеи, у которых число лейкоцитов в периферической крови не превышало верхнего значения региональных референсных значений, составляющего 6400 в 1 мкл. В первой группе использована традиционная схема лечения. В комплекс лечения второй группы добавлен рекомбинантный ИЛ-1β – беталейкин. Включение цитокинотерапии – рекомбинантного ИЛ-1β – в схему лечения больных с тяжелыми гнойно-воспалительными заболеваниями (ГВЗ) лица и шеи привело к изменению динамики показателей иммуноцитокинетического статуса. Наиболее существенным результатом влияния цитокинотерапии явилось увеличение числа лимфоцитов, за счет увеличения Т и В-лимфоцитов, повышение фагоцитарной активности нейтрофилов к 11-12 дню пребывания больных в стационаре. Количественные изменения Т-клеток сопровождались повышением экспрессии преимущественно маркеров позитивной активации – CD25 (рецептор ИЛ-2) и CD71 (маркер пролиферирующих клеток). Полученные результаты свидетельствуют о том, что добавление беталейкина в комплекс лечебных мероприятий ГВЗ лица и шеи привело к восстановлению количественной и функциональной недостаточности клеточного звена адаптивного иммунного ответа, повышению фагоцитарной активности нейтрофилов. Положительная иммунологическая динамика сочеталась клиническим эффектом – сокращением продолжительности стационарного лечения на 4,8 койко-дня, длительности антибиотикотерапии на 4 суток и снижением летальности с 12±4,6% при традиционном лечении до 10±6,71% при использовании цитокинотерапии.

Ключевые слова: гнойно-воспалительные заболевания, вторичный иммунодефицит, цитокинотерапия.

THE ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF CYTOKINE THERAPY FOR HEAVY FACE AND NECK PYOINFLAMMATORY DISEASES

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

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» (Kazan, Mushtari St. 11) e-mail: kma@mi.ru

In the work there are treatment results of two groups of patients with hypoanergic activity of heavy face and neck phlegmon, whose leukocyte number in peripheral blood doesn't go beyond the upper value of regional reference values which composes 6400 in 1 microliter. A traditional scheme was used in the first group. The recombinant IL-1β – betaleukin was added in the treatment complex of the second group. The inclusion of cytokine therapy – recombinant IL-1β – into the treatment regimen of patients with heavy face and neck pyoinflammatory diseases (PID) led to a change in dynamic rates of immune cytokine status. The most considerable result of cytokine therapy influence was an increase of lymphocyte amount at the expense of the increase of T and B- lymphocyte amount, activity increase of phagocytic neutrophils by 11-12th hospital-day stay of patients. Quantitative changes of T-cells were accompanied by the increase of expression of mainly positive activation markers – CD25 (receptor IL-2) and CD71 (marker of proliferating cells). The obtained results show that the inclusion of betaleukin in a complex of curative measures of face and neck PID led to the recovery of quantitative and functional deficiency of cell component of adaptive immune response, the activity increase of phagocytic neutrophils. The immune improvement was accompanied by a clinical effect – the reduction of hospital stay to 4,8 bed-days, the reduction of antibiotic therapy duration and the case fatality rate was decreased from 12±4,6% with the use of traditional treatment to 10±6,71% with the use of cytokine therapy.

Keywords: pyoinflammatory diseases, secondary immunodeficiency, cytokine therapy.

Введение

Лечение гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) лица и шеи продолжает оставаться одной из серьезных проблем неотложной хирургии, что объясняется неуклонным ростом прогрессирующих флегмон, распространяющихся подчас на несколько клетчаточных пространств и приводящих к таким грозным осложнениям, как медиастинит, тромбоз кавернозного синуса твердой мозговой оболочки и сепсис [3,4,6].

В большинстве случаев ГВЗ лица и шеи, как и любое ГВЗ другой локализации, протекают на фоне лейкоцитоза, увеличения числа нейтрофилов. В настоящее время большую актуальность приобретает лечение тяжелых гнойно-септических процессов лица и шеи, протекающих с гипо-, анергией организма, когда не происходит стимуляции лейкопоза в ответ на инфекционный патоген (число лейкоцитов не увеличивается выше региональных референсных значений здоровых, определенных в межквартильных пределах и составляющих 4700-6400 в 1 мкл) [2]. Малоэффективность существующих методов лечения таких случаев, высокая смертность на фоне нарушенной иммунореактивности побудили к поиску более эффективных методов лечения, направленных на восстановление иммунных расстройств на системном уровне. В этой связи наше внимание привлек препарат с лейкопозстимулирующим и иммунореанирующим свойствами – рекомбинантный аналог нативного IL-1 β – беталейкин [5].

Целью исследования явилась оценка эффективности комплексного лечения больных тяжелыми флегмонами лица и шеи, состоящего из комбинации хирургического и консервативного методов лечения с применением цитокинотерапии беталейкином.

Материал и методы исследования. Под нашим наблюдением находилось 130 больных тяжелыми ГВЗ лица и шеи, в возрасте 16-60 лет, 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.

Помимо общепринятых методов клинико-лабораторного исследования, больным проводили определение показателей иммуноцитокينوвого статуса. Для идентификации лимфоцитов и их субпопуляций осуществляли иммунофенотипирование мононуклеарных клеток методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (МКАТ) CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD71, CD95 («Сорбент», Москва) согласно методике производителя МКАТ. Уровни сывороточных иммуноглобулинов основных

классов (IgM, IgG, IgA) определяли методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini с соавторами [8] с использованием моноспецифических сывороток и стандартов ФГУП «НПО МИКРОГЕН» МЗ РФ. Концентрацию ЦИК в сыворотке крови определяли методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) [1]. Для изучения способности фагоцитов к поглощению использовали взвесь лейкоцитов, которую инкубировали со стандартными частицами латекса диаметром 1,35 мкм («Имуноскрин», Москва) в течение 30 мин [7]. Определение концентрации цитокинов - IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IL-8, IL-10, TNF α , IFN- γ и рецепторного антагониста IL-1 β (Ra-IL-1 β) проводили методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-систем (ООО «Цитокин», С-Петербург). Объектом исследования служила венозная кровь. Исследования проводили до начала лечения (на 1-2 сутки от момента поступления больных в стационар) и на 11-12 сутки лечения.

Статистическую обработку результатов исследования проводили 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 гемограмм выделяли в отдельную группу больных с гипо-, анергическим течением тяжелой флегмоны лица и шеи, у которых число лейкоцитов в периферической крови не превышало верхнего значения региональных референсных значений, составляющего 6400 в 1 мкл. Таковых оказалось 40 человек, они были объединены в две клинические группы в зависимости от метода лечения. В первую группу вошли 20 пациентов, которых лечили по традиционной схеме. Вторую группу составили 20 больных, получавших, кроме базисной терапии, рекомбинантный цитокин – беталейкин. Цитокиноterapia включала три ежедневных капельных внутривенных введения беталейкина в средней терапевтической дозе 0,25 мкг. Препарат назначали на 6-е, 7-е и 8-е сутки лечения больного в стационаре.

Традиционная схема лечения включала 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 групп были идентичны.

Результаты и обсуждение

При сравнении показателей иммунного статуса больных с анергическим течением ГВЗ челюстно-лицевой области с референсными значениями выявлен ряд различий (табл. 1): уменьшение числа лейкоцитов за счет сокращения содержания лимфоцитов, а также – относительного и абсолютного количества Т-клеток (CD3⁺), абсолютного содержания В-лимфоцитов (CD20⁺). Что касается клеток иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов - CD4⁺ и CD8⁺, их количество было уменьшено в равной степени. Различие в гуморальном звене адаптивного иммунного ответа у больных ГВЗ лица и шеи проявлялось сниженным уровнем основного класса сывороточных иммуноглобулинов – IgG. Был снижен показатель фагоцитарной активности нейтрофилов – фагоцитарное число. Количественный дефицит лимфоцитов различных популяций и субпопуляций сочетался снижением экспрессии активационных маркеров – CD25, CD71 и CD95. Выявленные сдвиги в иммунном статусе обследованной группы больных ГВЗ лица и шеи можно рассматривать как комбинированный иммунодефицит, проявляющийся угнетением клеточного и гуморального механизмов адаптивного иммунитета и снижением фагоцитарной активности нейтрофилов.

Таблица 1

Статистически значимо различающиеся показатели врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных ГВЗ лица и шеи и здоровых лиц

Показатель	Здоровые n=40	Больные n=40	p<
	M±SD	M±SD	
Лейкоциты	5585±1294	4553±345	0,001
Нейтрофилы %	58,5±7,0	80,1±6,6	0,001
Нейтрофилы в 1 мкл	3236±967	3715±372	0,01
Лимфоциты, %	36,2±7,0	10,8±8,2	0,001
Лимфоциты в 1 мкл	2011±570	504±289	0,001
CD3 ⁺ - лимфоциты, %	61,9±6,3	44±7,2	0,001
CD3 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	1246±369	197,5±143,1	0,001
CD20 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	289±145	46,1±21,6	0,001
IgG, г/л	11,9±1,9	9,7±2,3	0,001
Фагоцитарное число	4,1±0,6	3,7±0,8	0,05
CD4 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	757±236	116,7±91,9	0,001
CD8 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	471±170	82,8±47,4	0,001
CD71 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	127±106	36,1±38,6	0,001
CD25 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	143±83	37,4±45,6	0,001
CD95 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	393±137	87,3±78,2	0,001

В табл. 2 приведены в сравнительном аспекте иммунологические показатели двух групп больных – леченных традиционным методом и вновь предложенным, включающим введение беталейкина. Эти данные свидетельствуют о том, что при использовании цитокинотерапии беталейкином был более выражен прирост общего числа лейкоцитов за счет увеличения числа лимфоцитов и уменьшения относительного содержания нейтрофильных лейкоцитов. При этом в большей степени возрастало число Т-клеток, достигнув уровня здоровых, и в меньшей – В-клеток. Что касается субпопуляций Т-лимфоцитов, при традиционном способе лечения отмечалась тенденция к уменьшению процентного числа Т-хелперных клеток, в то время как при использовании беталейкина происходило существенное повышение этого показателя, что приводило к увеличению в 2,4 раза (относительно значения сравниваемой группы) среднего значения его абсолютного содержания. Абсолютное число цитотоксических Т-клеток увеличивалось в обеих группах, однако в большей степени в группе с использованием беталейкина. Фагоцитарный индекс к 11-12 дню лечения оказался выше в группе, где использовали цитокинотерапию.

Таблица 2

Динамика показателей врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных ГВЗ лица и шеи под влиянием лечения беталейкином и традиционным методом

Показатель		Традиционное лечение	Традиционное лечение	p
		n=20	+беталейкин n=20	
		M±SD	M±SD	
Лейкоциты	I	4553±345	4433±361,5	NS
	II	5415±1254*	6983±1750*	0,039
Нейтрофилы %	I	82,1±6,6	79,0±6,7	NS
	II	65,0±10,2***	55,3±10,0***	NS
Нейтрофилы в 1 мкл	I	3732±372	3488±217	NS
	II	3483±810	3929±1458	NS
Лимфоциты, %	I	9,3±6,0	10,2±3,5	NS
	II	25,8±8,2***	36,3±7,9***	0,018
Лимфоциты в 1 мкл	I	424±289	448±141	NS
	II	1421±632***	2500±726***	0,004
CD3 ⁺ - лимфоциты, %	I	44,0±7,2	43,0±13,6	NS
	II	44,2±7,2	56,6±7,8*	0,006
CD3 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	187±143	214±119	NS
	II	639±319***	1431±335***	0,000
CD20 ⁺ - лимфоциты, %	I	12,2±5,0	12,2±4,5	NS
	II	18,8±5,2***	18,0±2,9	NS

CD20 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	46±21	57±20	NS
	II	264±139***	463±161***	0,019
IgM, г/л	I	1,5±0,6	1,8±0,7	NS
	II	2,0±0,6*	2,4±0,3*	NS
IgG, г/л	I	11,6±2,5	12,8±3,2	NS
	II	14,9±4,4**	13,8±1,4*	NS
IgA, г/л	I	2,1±1,0	2,1±0,3	NS
	II	2,7±0,9**	3,1±1,0*	NS
Фагоцитарный индекс, %	I	53,7±5,0	54,2±13,7	NS
	II	55,9±10,1	68,0±7,4	0,028
Фагоцитарное число	I	3,9±0,5	3,7±0,7	NS
	II	3,8±0,6	3,9±0,3	NS
CD4 ⁺ - лимфоциты, %	I	26,9±5,1	27,0±12,4	NS
	II	24,9±5,1	34,2±7,8*	0,009
CD4 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	116±91	132±87	NS
	II	352±160,8***	863±253***	0,000
CD8 ⁺ - лимфоциты, %	I	20,7±4,3	18,8±5,2	NS
	II	20,8±5,4	21,0±3,3	NS
CD8 ⁺ - лимфоциты в 1 мкл	I	82±47	95±50	NS
	II	308±190**	547±203**	0,032
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	I	1,3±0,3	1,5±0,6	NS
	II	1,3±0,5	1,7±0,7	NS
ЦИК	I	14,8±7,1	13,2±2,2	NS
	II	9,1±7,1*	7,0±3,4*	NS
Продолжительность стационарного лечения, койко-дни		22,8±3,7	18,0±3,0	0,013

Примечания: в табл. 2-3 цифрой I отмечено значение показателя до лечения, цифрой II – на 11-12 дни лечения в стационаре; p – достоверность различия показателей в группах больных по критерию Стьюдента; звездочками обозначена степень достоверности различия значений I и II показателей (* - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001); NS – различие не достоверно.

Параллельно с изменениями в иммунном статусе происходили сдвиги в показателях цитокинового профиля: в обеих группах происходило снижение уровней провоспалительного цитокина – IL-6 и Ra-IL-1 β (табл. 3). Содержание другого провоспалительного цитокина – IFN- γ в большей степени снижалось в группе больных, леченных традиционным методом, чем в группе, получавшей цитокинотерапию беталейкином. В результате, в последней группе уровень IFN- γ к 11-12-у дню лечения превысил аналогичный показатель в группе с традиционным лечением. В группе, получавшей беталейкин, снизился относительно исходного уровень противовоспалительного цитокина – IL-4, в то же время повысился – IL-2. Если в группе с традиционным лечением

произошло существенное повышение уровня противовоспалительного цитокина – IL-10, то на фоне цитокинотерапии он оставался практически на исходном уровне. Приведенные различия в характере сдвигов в продукции цитокинов в рассматриваемых группах больных обусловили достоверное превышение к 11-12 дню отношения (IL-1 β +IL-2)/(IL-4+IL-10) в группе пациентов, получавших лечение беталейкином.

Таблица 3

Динамика показателей цитокинового профиля у больных ГВЗ лица и шеи под влиянием лечения беталейкином и традиционным методом

Цитокины		Традиционное лечение	Традиционное лечение +беталейкин	p<
		M \pm SD	M \pm SD	
IL-1 β	I	24,0 \pm 8,2	30,0 \pm 7,2	NS
	II	28,9 \pm 13,1	34,4 \pm 17,9	NS
IL-2	I	8,0 \pm 8,2	7,5 \pm 8,0	NS
	II	15,8 \pm 20,7	18,6 \pm 13,3**	NS
IL-4	I	5,2 \pm 4,8	5,2 \pm 5,8	NS
	II	5,4 \pm 12,1	2,0 \pm 3,7*	NS
IL-6	I	98 \pm 86,2	109,5 \pm 93,2	NS
	II	15,1 \pm 5,8****	14,7 \pm 20,6****	NS
IL-8	I	171,2 \pm 151,7	204,9 \pm 101,5	NS
	II	198,3 \pm 151,1	166,5 \pm 84,9	NS
IL-10	I	7,5 \pm 4,9	8,4 \pm 5,1	NS
	II	12,3 \pm 2,7****	7,5 \pm 5,6	0,001
TNF α	I	4,2 \pm 7,1	3,5 \pm 5,4	NS
	II	3,4 \pm 3,8	0,9 \pm 1,8*	0,05
IFN- γ	I	69,0 \pm 121,0	78 \pm 105,3	NS
	II	2,5 \pm 3,5*	26,4 \pm 26,2*	0,001
Ra- IL-1 β	I	1002 \pm 467	945 \pm 402	NS
	II	442,4 \pm 404,9****	287,4 \pm 390,3****	NS
IL-1 β +IL-2	I	2,5 \pm 2,7	2,7 \pm 2,6	NS
	II	2,3 \pm 2,2	5,6 \pm 5,4*	0,05

Итак, включение цитокинотерапии – рекомбинантного IL-1 β – в схему лечения больных тяжелыми ГВЗ лица и шеи привело к изменению динамики показателей иммуноцитокринологического статуса. Наиболее существенным результатом влияния цитокинотерапии явилось увеличение числа лимфоцитов, за счет увеличения как Т-, так и В-лимфоцитов а также – повышение фагоцитарной активности нейтрофилов к 11-12 дню пребывания больных в стационаре. Полученные результаты свидетельствуют о том,

добавление беталейкина в комплекс лечебных мероприятий ГВЗ лица и шеи привело к восстановлению клеточного звена адаптивного иммунного ответа. Положительная иммунологическая динамика сочеталась выраженным клиническим эффектом – сокращением продолжительности стационарного лечения на 4,8 койко-дня, длительности антибиотикотерапии на 4 суток и снижением летальности с $12\pm 4,6\%$ при традиционном лечении до $10\pm 6,71\%$ при использовании цитокинотерапии. Кроме этого, сократились сроки гноетечения из ран на 4 суток.

Выводы Полученные данные не позволяют установить конкретные закономерности динамики продукции отдельных цитокинов под влиянием традиционного лечения и цитокинотерапии. Однако благодаря использованию показателя отношения концентрации основных цитокинов, участвующих в инициации адаптивного иммунного ответа – IL-1 β и IL-2, к уровню цитокинов IL-4 и IL-10, обладающих, как известно, ингибирующим влиянием на продукцию первых двух, представляется возможным отметить итоговый результат в сдвигах, происшедших под влиянием двух сравниваемых методов лечения. Если значение отношения $(IL-1\beta+IL-2)/(IL-4+IL-10)$ практически не изменилось под влиянием традиционного лечения, то у пациентов, в лечение которых был добавлен беталейкин, этот показатель существенно повысился, что свидетельствует о сдвиге баланса продукции цитокинов в сторону преобладания иммуноиницирующих цитокинов – IL-1 β и IL-2. Возможно, что отмеченный итоговый эффект беталейкина на цитокиновый статус больных при ГВЗ лица и шеи, протекающих на фоне анергии, ответственен за активацию клеточного звена адаптивного иммунного ответа и фагоцитарной активности нейтрофилов.

Список литературы

1. Гриневич Ю.А., Алферов А. Н. Определение иммунных компонентов в крови онкологических больных // Лабораторное дело. – 1981. – №8. – С.493-496.
2. Карзакова Л.М. Дефицит цинка, иммунитет и бронхолегочная патология. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2004. – С. 51
3. 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.
4. Робустова Т.Г. Хирургическая стоматология // Москва. «Медицина» – 2003. – С. 157-158.
5. Симбирцев А.С., Пигарева Н.В., Конусова В.Г. и др. Изучение биологической активности рекомбинантного интерлейкина - 1 бета человека при введении in vivo // Вестник РАМН. – 1993. – №2. – С. 18-22.

6. Тер-Асатуров Г.П. Некоторые вопросы патогенеза одонтогенных флегмон // Стоматология. – 2005. – № 1. – С. 20-27.

7. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология // М.: Медицина, 1995. – С. 219.

8. 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.