УДК 616.314 – 089.23 – 097

ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИЛ-1β НА МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С ОСЛОЖНЕННЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Бережная Е. С., Латюшина Л. С.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия, e-mail: Berezhnaya.elen@yandex.ru

Проведено исследование саливаторных показателей врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти. Все больные были разделены на 2 группы (группу сравнения и основную). Пациенты группы сравнения получали общепринятое лечение, а в основной группе дополнительно, локально применяли препарат «Колетекс-бета» на основе рекомбинантного ИЛ-1β. В ходе изучения уровня флогогенных цитокинов нестимулируемой смешанной слюны (ИЛ-1β, ИЛ-8), секреторного IgA и функциональной активности нейтрофилов (абсолютной численности нейтрофильных гранулоцитов, функционального резерва) выявлены статистические различия данных показателей, как в сравнении со здоровыми добровольцами, так и в динамике лечения. Анализ полученных данных выявил исходное повышение уровня ИЛ-1β и ИЛ-8 у всех пациентов, снижение уровня данных цитокинов происходило в динамике лечения, оставаясь, однако, более высоким у пациентов, в схеме лечения которых использовали локальную иммунокоррекцию. Низкие показатели секреторного Ig A, отмеченные к 10–12 м суткам лечения могут свидетельствовать об угнетении бактерицидной активности слюны, наиболее ярко это проявляется у пациентов группы сравнения. Определено влияние локальной иммунотерапии беталейкином на ряд показателей мукозального иммунитета и функциональную активность нейтрофилов, направленное на повышение протекторных и репаративных возможностей данного звена клеточного иммунитета.

Ключевые слова: перелом нижней челюсти, беталейкин, локальная иммунотерапия, цитокины.

THE EFFECT OF LOCAL IMMUNOTHERAPY WITH RECOMBINANT IL-1β ON MUCOSAL IMMUNITY OF ORAL CAVITY IN PATIENTS WITH COMPLICATED MANDIBULAR FRACTURES

Berezhnaya E. S., Latyushina L. S.

[1]South Ural state medical University,Chelyabinsk , Russia, e-mail: Berezhnaya.elen@yandex.ru

We have done the study of salivatory indicators of innate and adaptive immunity in patients with complicated mandibular fractures. All patients were separated into 2 groups (the comparison group and main). The comparison group received conventional treatment, but in the main group additionally, the locally we have applied drug "Koletex-beta" on the basis of recombinant IL-1β. In the study of level phlogogenic cytokines of mixed saliva (IL-1β, IL-8), secretory IgA and functional activity of neutrophils (absolute number of neutrophil granulocytes, functional reserve) statistical differences were identified between these indicators as compared with healthy volunteers, and in the dynamics of treatment. The analysis of the data revealed an initial increase in the level of IL-1β and IL-8 in all patients, the decrease in the level of these cytokines occurred in the dynamics of treatment, remaining, however, higher in patients in the treatment scheme which used local immunocorrection. Low values of secretory Ig A, observed in 10-12 days of treatment may indicate the inhibition of bactericidal activity of saliva, this is most clearly seen in patients in the comparison group. We determined the effect of local immunotherapy with betaleucine on a number of indicators of mucosal immunity and functional activity of neutrophils, aimed at increasing protective and reparative capabilities of the cellular link of immunity.

Keywords: mandibular fracture, Betaleukin, local immunotherapy, cytokines.

Травматизм в современном обществе имеет выраженную тенденцию к росту, что связано с рядом факторов, приводящих к увеличению объема стресса у населения и, как следствие, значительному уровню агрессии, который ведет к росту, в том числе и бытового травматизма. В структуре травм челюстно-лицевой области переломы нижней челюсти занимают лидирующую позицию и составляют до 80 % от всех травм данной локализации

[10]. Около 75 % переломов нижней челюсти происходят в пределах зубного ряда и, соответственно, являются открытыми – первично инфицированными за счет высокой контаминации микрофлорой полости рта. По данным ряда авторов, в 30 % случаев развиваются различные посттравматические осложнения, в том числе и воспалительного характера (нагноение костной раны, абсцессы и флегмоны околочелюстных мягких тканей и травматический остеомиелит), которые могут приводить к длительной нетрудоспособности, а иногда к инвалидизации пациентов трудоспособного возраста [3]. Одним из перспективных методов изучения проблемы снижения риска осложненного течения переломов нижней челюсти служит определение изменений локального иммунитета полости рта и способов коррекции выявленных нарушений. Указанные предпосылки определили направление данного исследования.

Цель исследования. Изучить влияние локальной иммунокоррекции беталейкином на саливаторные показатели врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти в процессе комплексного лечения.

Материалы и методы. На базе отделения челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Областная клиническая больница № 1» г. Челябинска в период с 2010 г. по 2013 г. проводилось краткосрочное, проспективное сравнительное, «простое слепое» рандимизированное исследование. 70 пациентов с осложненными переломами нижней челюсти были разделены на две группы, в зависимости от схем лечения, по принципу динамической рандомизации: группа сравнения (n=35; мужчин - 32, женщин - 3;средний возраст 30 [26;36] лет); основная группа (n=35; мужчин - 33, женщин - 2; средний возраст 26 [22;32] лет). Критерии отбора пациентов: наличие одиночного либо двойного перелома нижней челюсти с локализацией в пределах зубного ряда (ангулярный отдел, ментальный отдел, тело нижней челюсти), осложненного нагноением костной раны; возраст от 18 до 74 лет; информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: наличие тяжелой соматической патологии; онкологические заболевания; аутоиммунные заболевания; гормональные нарушения; беременность и лактация; отказ пациента от участия в исследовании. Диагноз ставился в соответствии с международной статистической классификацией болезней (МКБ-10, 1995. Код S-02.6). Иммобилизация отломков проводилась хирургическими (n=20) (металлостеосинтез с использованием титановых мини-пластин фирмы Конмет, Россия) или ортопедическими (n=50) методами (закрытая репозиция путем наложения стандартных ленточных шин Васильева, бимаксилярных проволочных шин Тигерштедта). В каждой из 2-х групп больных были выделены подгруппы, в зависимости от способа иммобилизации отломков: группа сравнения - n=25 с ортопедическими методами фиксации и n=10 с хирургическими;

соответственно в основной группе – n=25 и n=10. Больные в группах были сопоставимы по полу, возрасту, локализации перелома и способу иммобилизации. Пациенты всех групп получали базовый комплекс лечебных мероприятий [1]. При лечении пациентов группы сравнения применялся традиционный базовый комплекс лечебных мероприятий; больным основной группы, помимо базовой терапии, местно применяли препарат «Колетекс-бета» (гель с рекомбинантным ИЛ-1β, регистрационное удостоверение № ФСР 2011/12044 от 30.09.2011г., ООО «Колетекс», Москва) по разработанной в ходе исследования схеме (заявка на изобретение № 2015141053(063194) от 29.09.2015 г.).

В группу контроля (n=14) вошли клинически здоровые, с санированной полостью рта добровольцы, сопоставимые по полу и возрасту с пациентами. Для изучения показателей мукозального иммунитета полости рта, производили забор нестимулированной смешанной слюны на 2-е и на 10–12 сутки. В процессе исследования проводили изучение саливаторного уровня флогогенных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-8), секреторного Ig A, а также функциональную активность нейтрофилов (абсолютная численность нейтрофильных гранулоцитов, функциональный резерв). Концентрацию ИЛ-1β, ИЛ-8 и sIgA в слюне пациентов с осложненными переломами нижней челюсти определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием соответствующих реагентов «Вектор-Бест», Новосибирск. Функциональный резерв нейтрофилов (ФР) определяли как соотношение между коэффициентами интенсивности реакции НСТ-индуцированного и НСТ-спонтанного тестов, который исследовали по методу А. Н. Маянского и М. Е. Виксмана (1979) [5]. Данные, обработанные методами вариационной статистики, выражали в виде медианы и процентилей (M [Q1; Q2]), n – количество наблюдений в выборке. О достоверности различий судили при помощи непараметрических критериев Вилкоксона, Манна – Уитни. Данные считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты исследования обрабатывались на ПЭВМ с использованием пакета прикладных программ «BioStat».

Результаты и обсуждение. Результаты изучения функциональных показателей нейтрофилов полости рта, флогогенных цитокинов и секреторного Ig A у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели ИЛ 1-β, ИЛ – 8, секреторного Ig A, функционального резерва нейтрофилов слюны у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти при различных методах фиксации отломков

Показатели местного иммунитета	Группа сравнения n = 35				Основная группа n = 35				Контрольная группа n=14
	ортопед. лечение n=25		хирургическ. леч. n=10		ортопед. лечение n = 25		хирургическ. леч. n = 10		
	2 сут.	10-12 сут.	2 сут.	10-12 сут.	2 сутки	10-12 сут.	2 сут.	10-12 сут.	
ИЛ 1-β (пг/мл)	422,357 [164,996;497,314] * p =0,03	153,25 [89,005; 231,902] # p =0,001	400,446 [187,5; 554,732] * p =0,002	136,715 [60,423;270,7948] # p =0,006	418,278 [172,524; 454,367] * p =0,03	211,947 [186,161; 441,251] # p =0,04 ^ p =0,0003	384,458 [172,524; 454,367] * p =0,002	237,435 [160,146; 250,067] # p =0,0001 ^ p =0,006	177,256 [74,13; 311,72]
ИЛ – 8 (пг/мл)	528,735 [528,735;283,396] * p =0,05	269,017 [213,967; 506,459] # p =0,03	516,912 [379,006; 642,396] * p =0,01	264,347 [231,098; 441,3668] # p =0,001	516,912 [462,241; 620,197] * p =0,01	417,563 [377,349; 484,839] # p =0,007 ^ p =0,03	520,314 [407,126; 623,896] * p =0,01	423,572 [337,444; 461,231] # p =0,003 ^ p =0,05	386,166 [287,83; 538,87]
sIg A мг/л	62,966 [24,5615;79,321] * p =0,004	25,228 [16,7365;112,723] * p =0,0004 # p =0,03	84,768 [48,96; 148,719]	41,36 [19,92; 80,92] * p =0,002 # p =0,02	81,556 [43,56; 129,32]	64,988 [32,682; 105,865] # p =0,03 ^ p =0,0002	80,654 [47,679; 139,973]	71,56 [21,912; 140,955] # p =0,04 ^ p =0,03	96,899 [59,702; 211,83]
ФР, у.е.	1,2 [1,03;1,6] * p =0,01	1,49 [1,19; 2,25] # p =0,03	1,4 [1,2;1,9]	1,0 [1;1,2]	1,1 [1;1,57] * p =0,004	1,8 [1,2;2,3] # p =0,01	1,1 [0,7;1,2] * p =0,0005	1,5 [0,7;1,8]	1,6 [1,5;1,8]
Лейкоциты, $\times^9$/л	18,95 [11,8;32,8] * p =0,01	13,8 [9,6;20,9]	23,2[17,8; 24,8]	20,1[20,1; 14,2]	20,25 [13,1; 32,8] * p=0,002	17,75 [10,4; 35,9] * p=0,01	18[21,95; 10,45]	10,6[8,1; 16,2] ^ p =0,005	13,6 [4,7; 15,6]

Примечание: непараметрические критерии Вилкоксона, Манна – Уитни; p≤0,05
** – статистическая значимость различий с показателями группы контроля,*
 # – статистическая значимость различий внутри группы до и после лечения (методы лечения соответствуют),
^ – статистическая значимость различий между группой сравнения и основной группой (сроки и методы лечения соответствуют).

Анализ полученных данных выявил, что исходно у всех пациентов было зарегистрировано значительное повышение уровня ИЛ-1β и ИЛ-8, что указывает на активацию клеточных факторов иммунитета в области костной раны и свидетельствует об объеме воспалительного процесса [8]. На это же указывает высокий показатель количества лейкоцитов в слюне у всех пациентов на 2-е сутки стационарного лечения. В динамике лечения уровень ИЛ-1β снижался как в основной группе, так и в группе сравнения, однако у пациентов, получавших локальную иммунотерапию рекомбинантным ИЛ-1β, этот показатель был выше, что может указывать на инициацию репаративных процессов в повторные сроки исследования [6]. Фактор аттракции нейтрофилов ИЛ-8 в динамике лечения восстанавливался у всех обследуемых больных. Тем не менее у больных, получавших беталейкин, были зафиксированы более высокие концентрации данного цитокина, в сравнении с показателями пациентов, пролеченных традиционно. Известно, что ИЛ-8 характеризуется тем, что синтезируется на ранней стадии воспалительного ответа, обеспечивает активацию клеток – участников воспалительного процесса. Высокий уровень

хемоаттрактанта для нейтрофилов в смешанной слюне у пациентов основной группы можно расценить, как более высокий потенциал для купирования острого воспалительного процесса в местном очаге [9]. А также известно, что ведущий механизм действия беталейкина связан с усилением секреции ИЛ-8 [2], что, вероятно, связано с экзогенным его введением в локальный очаг воспаления.

Показатели секреторного IgA в группе сравнения значительно снижались к 10–12 суткам лечения, оставаясь высокими в основной группе на фоне локальной терапии рекомбинантным ИЛ-1β. Секреторный IgA в организме выполняет несколько функций, которые направлены на поддержание иммунологического гомеостаза [7]. Установлено, что у пациентов с переломами нижней челюсти в пределах зубного ряда, осложненных нагноением костной раны, создаются условия для свободной миграции патогенов из полости рта в зону перелома и обратно, что проявляется повышением уровня микробной обсемененности, в том числе и ротовой жидкости. Данный факт способствует возникновению дисбаланса факторов резистентности [4]. Учитывая наличие гнойного процесса, связанного с полостью рта у обследуемых пациентов, то есть имеющих исходную антигенную нагрузку и низкие значения уровня секреторного IgA смешанной слюны, можно предположить угнетение данного сегмента мукозального иммунитета, что особенно выражено у пациентов группы сравнения.

У всех пациентов на 2-е сутки лечения отмечен низкий показатель функционального резерва нейтрофилов, что, вероятно, свидетельствует об исходной гипореактивности бактерицидной системы. Отсутствие роста данного показателя на фоне традиционных схем лечения осложненных переломов нижней челюсти у больных группы сравнения может указывать на низкую способность нейтрофильных гранулоцитов отвечать на дополнительную стимуляцию усилением процессов дыхания и образования бактерицидных ферментов и, таким образом, создаются предпосылки для сохранения бактериальной флоры в зоне перелома и трансформации нагноения костной раны в травматический остеомиелит. У пациентов же основной группы отмечено повышение функционального резерва в процессе лечения, что демонстрирует адекватность резервных возможностей нейтрофилов локального очага после проведенной иммунотропной терапии беталейкином.

Выводы. Оценивая результаты исследования, можно сделать вывод о выявленном угнетении факторов резистентности локальной иммунной защиты у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти. Локальная иммунотерапия рекомбинантным ИЛ-1β у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти оказывает влияние на ряд показателей мукозального иммунитета и функциональную активность нейтрофилов

ротовой полости, направленное на повышение потенциала протекторных факторов и создание благоприятных условий для репаративных процессов.

Список литературы

1. Безруков В.М., Робустова Т.Г. Руководство по хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. – М.: Медицина, 2000. – Т.1. – 776 с.
2. Варюшина Е. А., Конусова В.Г., Александров Г.В., Симбирцев А.С. Изучение роли интерлейкина-1β в регуляции процессов локального воспаления и репарации // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 3. – Приложение 1. – С. 49-50.
3. Вернадский Ю.И. Травматология и восстановительная хирургия челюстно-лицевой области / Ю.И. Вернадский. – М.: Медицинская литература, 2006. – 456 с.
4. Дурново, Е.А. Сравнительный анализ функциональной активности нейтрофилов крови и ротовой полости у больных с гнойно-воспалительным процессом в полости рта / Е. А. Дурново // Стоматология. – 2005. – № 3. – С.29-32.
5. Маянский, А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: методические рекомендации / А.Н. Маянский, М.К. Виксман. – Казань, 1979. – 11с.
6. Мезенцева Е.А. Состояние иммунной системы и влияние на неё беталейкина у больных с переломами трубчатых костей в начальных периодах травматической болезни: автореферат дис. … канд. мед. наук. – Челябинск, 2001. – 23 с.
7. Москалёв, А.В. Инфекционная иммунология / А.В. Москалёв, В.Б. Сбойчаков. – СПб.: Фолиант, 2006. – 176 с.
8. Симбирцев А.С. Интерлейкин – 1. Физиология. Патология. Клиника. СПб.: Фолиант, 2011. – 237 с.
9. Теплова, С.Н. Секреторный иммунитет / С.Н. Теплова, А.Д. Алексеев. – Челябинск: УрО РАН, 2002. – 200 с.
10. Шаргородский А.Г. Травмы мягких тканей и костей лица. – М.: ГЭОСТАР-МЕД, 2004. – 207с.

Рецензенты:

Васильев Ю.С., д.м.н., профессор кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава РФ, г. Челябинск;

Нуриева Н.С., д.м.н., профессор кафедры ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава РФ, г. Челябинск.