

Динаміка прозапального інтерлейкіну-2 при множинній скелетній травмі

Н.В.Матолінець, Л.Є.Лаповець

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Львів, Україна

Вивчений вплив рекомбінантного інтерлейкіну-2 людини на стан імунітету та кількість гнійно-септичних ускладнень у хворих з політравмою на фоні переважання скелетної травми. Визначено, що введення рекомбінантного інтерлейкіну-2 людини на 2 і 5 добу після політравми зумовило вірогідне зростання рівня інтерлейкіну-2 плазми крові на 7 ($R=0,86$; $p=0,001$) і 14 добу ($R=0,85$; $p=0,002$) після травми, сприяло зниженню ускладнень перебігу травматичної хвороби ($R=-0,48$; $p=0,011$), вірогідно корелювало зі зниженням частоти розвитку поліорганної недостатності ($R=-0,59$; $p<0,001$).

Ключові слова: політравма, множинна травма, імунореактивність, рекомбінантний інтерлейкін-2 людини.

ВСТУП

До недавнього часу вторинна (посттравматична) імунна дисфункція не розглядалась в межах проблеми синдрому поліорганної дисфункції/недостатності [6]. Синдром системної запальної відповіді (ССЗП) при травмі та інфекції, що лежить в основі патогенезу синдрому поліорганної недостатності (СПОН), є патофізіологічним проявом неадекватного функціонування систем імунореактивності [6]. Для першого етапу відповіді організму постраждалого на травму характерна активація неспецифічних процесів імунореактивності, що реалізується клітинними і гуморальними факторами системи природної резистентності, супроводжується продукцією тканинами медіаторів запалення, прозапальних цитокінів, регуляцією симпатoadреналової системи. При надмірній

активації відбувається генералізація запалення, втрачається захисна функція локального запалення в ділянках травматичного ураження, зростають ефекти системної альтерації [8].

Пристаосувальні можливості природної резистентності організму обмежені. Дисфункцію Т-лімфоцитів і зменшення їх кількості внаслідок зростання процесів апоптозу компенсує вихід із депо нейтрофілів і моноцитів, активація тканинних макрофагів. Свій вклад у дисфункцію імунної системи в ранні терміни після політравми вносить масивна крововтрата, що супроводжується втратою не тільки клітин крові, але і гуморальних факторів імунореактивності [1]. Унаслідок ураження кісткового мозку при множинній скелетній травмі порушується функція кровотворення. Виражену імуносупресію Т- і В-лімфоцитів викликають глюкокортикоїди і простагландини E_2 , що також супроводжується зменшенням кількості зрілих та функціонально активних лімфоїдних клітин в системі циркуляції.

Експериментальні та клінічні дані дозволили встановити, що тяжкий травматичний шок при політравмі з переломами довгих трубчатих кісток супроводжується різким зменшенням продукції мононуклеарними клітинами інтерлейкінів (ІЛ) – ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-3 і підвищенням продукції ІЛ-6 [10]. ІЛ-1 ν є одним з ключових медіаторів процесу загальної активації імунної системи. Він збільшує експресію рецептора ІЛ-2 – фактора росту Т-лімфоцитів, посилює прозапальну активність Т-хелперів, моноцитів, нейтрофільних гранулоцитів та індукуює синтез печінкою білків-адаптогенів протягом гострої фази травматичної хвороби [7]. У ранні терміни після травми внаслідок активації Т-хелперів 1 типу (Th1) збільшується продукція ними ІЛ-2 і інтерферону- γ (IFN γ). ІЛ-2 сприяє збільшенню активності цитотоксичних клітин і фагоцитів, збільшенню синтезу плазматичними клітинами імуноглобулінів [2, 9]. Таким чином, у ранні терміни після тяжкої травми формується критич-

ний стан, коли фактори та механізми природної резистентності не можуть забезпечити ефективну адаптацію організму до пошкоджуючих факторів травми та ССЗВ, а системи адаптивного імунітету ще не включилися в компенсацію [6].

Період максимальної вірогідності розвитку ускладнень перебігу травматичної хвороби починається з 3 доби, коли відбувається зниження фагоцитарного індексу, що характеризує розвиток імунітету [4]. На 5-7 добу після політравми відбувається найбільш виражена тяжка загальна імунітету, яка представляє собою набутий (вторинний) структурно-функціональний комбінований Т-лімфоцитарно-моноцитарний імунітету [3].

На сьогодні проголошується концепція вивчення патогенезу порушень гомеостазу у хворих з тяжкою політравмою, обґрунтування проведення профілактики гнійно-септичних ускладнень рекомбінантним ІЛ-2 людини в комплексі інтенсивної терапії.

Метою роботи було дослідити вплив рекомбінантного інтерлейкіну-2 людини на стан імунітету та кількість гнійно-септичних ускладнень у хворих з політравмою на фоні домінування скелетної травми.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі наведені дані клінічного обстеження та лікування 36 хворих з тяжкою політравмою з домінуванням скелетної травми, доставлених до відділення анестезіології та інтенсивної терапії (ВАІТ) комунального закладу «Міська клінічна лікарня швидкої допомоги» м. Львова. Середній вік постраждалих склав $38,2 \pm 19,2$ року. Механізм травми: дорожньо-транспортна пригода — 85%, падіння з висоти — 5%, побутова травма — 20%. Термін госпіталізації до стаціонару в середньому склав 0,5 год. На догоспітальному етапі хворим проводилась транспортна іммобілізація, введення знеболюючих препаратів, інфузійна терапія.

У залежності від методів інтенсивної терапії пацієнти з політравмою на тлі домінування скелетної травми були розподілені на дві підгрупи. До 1 групи ($n=24$) увійшли хворі, яким проводилося стандартне лікування. 2 група ($n=12$) включала пацієнтів, яким за схемою вводився рекомбінантний ІЛ-2 людини (ронколейкін, Біотех, Росія).

Усім хворим проводилась корекція водно-електролітної рівноваги та метаболічних порушень, респіраторна терапія за показаннями, призначалися антибактеріальна терапія, анальгетика, симптоматична терапія. Імунотерапія рекомбінантним ІЛ-2 людини проводилась шляхом інфузії препарату в дозі 500 мг на 400 мл фізіологічного розчину натрію хлориду впродовж 4-6 год. Препарат вводили двічі — на 2 і 5 добу після травми.

Імунологічне дослідження включало підрахунок абсолютної кількості лімфоцитів, визначення показників клітинного і гуморального імунітету, вміст імунoglobulinів класів А, М і G у сироватці крові на етапах — при надходженні до ВАІТ, на 3, 7 і 14 добу після травми. Показники імунограми визначали шляхом визначення популяції лімфоцитів непрямим імунофлюоресцентним методом з моноклональними антитілами (реактиви фірми «Сорбент», Росія).

Вміст ІЛ-2 плазми крові визначали методом імуноферментного аналізу. Для визначення ІЛ-2 використовували набір «Pro-Con ІЛ-2» (Росія) на базі клініко-діагностичної лабораторії ЛНМУ ім. Данила Галицького.

При вивченні динаміки ІЛ-2 при політравмі порівняння значень прозапального цитокіну проводили з показниками регіонарної норми. Математичний аналіз результатів дослідження здійснювався за допомогою ліцензійного пакета статистичного аналізу даних Statistica 6. Порівняння статистичних характеристик у різних групах і в динаміці спостереження проводилось з використанням параметричних і непараметричних критеріїв (з урахуванням закону розподілу). Результати при $p < 0,05$ вважалися статистично вірогідними [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження довели, що на 3 добу після травми у постраждалих з політравмою на тлі домінування скелетної травми реєструвалося підвищення рівня ІЛ-2 статистично вірогідне в порівнянні з регіонарною нормою (табл. 1). Середній рівень ІЛ-2 у групі норми склав: $M \pm SD = 12,1 \pm 2,4$ пг/мл.

При цьому у пацієнтів 1 групи на 3 добу після травми середній рівень ІЛ-2 досягав $139,9 \pm 47,6$ пг/мл, що в 10,4 рази перевищувало показники регіонарної норми ($p < 0,001$). У пацієнтів 2 групи рівень ІЛ-2 перевищував норму в 7,9 рази ($p < 0,001$), його середні значення ($107,3 \pm 21,4$ пг/мл) вірогідно не відрізнялися від пацієнтів 1 гру-

ТАБЛИЦЯ 1

Динаміка рівня ІЛ-2 сироватки крові у хворих з політравмою на фоні переважання скелетної травми

Доба дослідження	1 група (n=24)	2 група (n=12)	Відмінності між групами
3 доба			
M±SD, пг/мл Me (25%; 75%)	139,9±47,6 136,5 (73,5; 217,5)	107,1±21,4 103,5 (91,0; 113,7)	H=2,18 p=0,139
Відмінності з нормою	p<0,001	p<0,001	
7 доба			
M±SD, пг/мл Me (25%; 75%)	63,1±59,5 43,5 (29,3; 92,7)	188,6±32,2 198,5 (154,0; 210,0)	H=11,11 p<0,001
Відмінності з нормою	p=0,008	p<0,001	
14 доба			
M±SD, пг/мл Me (25%; 75%)	44,9±37,9 41,5 (12,5; 78,5)	233,1±40,8 245,0 (223,8; 245,5)	H=12,64 p=0,001
Відмінності з нормою	p=0,029	p<0,001	

пи, яким на 2 добу після травми не вводився рекомбінантний ІЛ-2 людини (H=2,18; p=0,139).

Із 7 доби спостереження визначалися вірогідні відмінності динаміки ІЛ-2 у крові постраждалих на тлі домінування скелетної травми. Так, у пацієнтів 1 групи починаючи з 7 доби після травми рівень ІЛ-2 плазми крові знижується, поступово досягаючи середніх значень 63,1±59,5 пг/мл (p<0,001 до попереднього етапу). Рівень ІЛ-2 у постраждалих 1 групи через тиждень після травми продовжував вірогідно перевищувати в 4,7 разу показники регіонарної норми (p=0,008).

На 14 добу травматичної хвороби у пацієнтів 1 групи середній рівень ІЛ-2 продовжував знижуватись, сягаючи значень 44,9±37,9 пг/мл (p=0,020 до попереднього етапу; p<0,001 до вихідного рівня), але в 3,4 разу перевищував середні значення регіонарної норми на даному етапі спостереження. У хворих з множинною травмою на тлі превалювання скелетної травми через два тижні після травми спостерігалася велика варіація значень прозапального цитокину (C=84,6%), при цьому у 30% хворих, яким не вводили рекомбінантний ІЛ-2 людини, значення ІЛ-2 у крові дорівнювали «0». У 70% постраждалих рівень ІЛ-2 вірогідно перевищував значення норми (p=0,029).

У пацієнтів 2 групи на 7 добу спостереження, навпаки, реєструвалося вірогідне зростання (p<0,001 до попереднього етапу) рівня ІЛ-2 до 188,6±32,2 пг/мл у порівнянні з пацієнтами, яким не вводився рекомбінантний ІЛ-2 людини. Це в 14 разів перевищувало норму на цьому етапі спостереження і в 2,9 разу рівень ІЛ-2 постраждалих 1 групи. Відмінності між підгрупами були вірогідними (H=11,11; p<0,001).

На 14 добу після травми у пацієнтів 2 групи рівень ІЛ-2 продовжував зростати до 233,1±40,8 пг/мл (p=0,003 до попереднього етапу; p=0,004 до вихідного рівня), перевищував норму в 17,6 разу (p=0,002). Варіація рівня ІЛ-2 була незначною (C=17,8%). Середній рівень ІЛ-2 постраждалих 2 групи перевищував показники хворих 1 групи в 5,2 разу, відмінності між групами були вірогідними (H=12,64; p=0,001).

Для оцінки взаємозв'язку між ознаками проводився кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена (R). Введення рекомбінантного ІЛ-2 людини у пацієнтів 2 підгрупи обумовлювало вірогідне поступове збільшення рівня ІЛ-2 в плазмі крові на 7 (R=0,86; p=0,001) і 14 добу (R=0,85; p=0,002) після травми. У той час пацієнти, що не отримували рекомбінантний ІЛ-2 людини, демонстрували зменшення показника у фазі індукції імунної відповіді на фоні перебігу травматичної хвороби, що обумовлена скелетною травмою. Це супроводжувалося на 7 добу після травми у пацієнтів 1 групи наявністю вірогідного кореляційного зв'язку між зниженням рівня ІЛ-2 і розвитком СПОН (R=-0,54; p=0,042). Підвищення рівня ІЛ-2 у пацієнтів 2 групи корелювало зі зменшенням вірогідності розвитку пневмонії на 7 (R=-0,67; p=0,024) і 14 добу (R=-0,76; p=0,030) після травми.

Проведення кореляційного аналізу довело, що використання рекомбінантного ІЛ-2 людини сприяло зниженню ускладнень перебігу травматичної хвороби (R=-0,48; p=0,011), вірогідно корелювало зі зменшенням частоти розвитку поліорганної недостатності у пацієнтів 2 підгрупи (R=-0,59; p<0,001).

Проведений аналіз впливу рекомбінантного ІЛ-2, зокрема за рахунок зростання рівня

ІЛ-2 плазми крові, на зміни параметрів імунної функції постраждалих з домінуючою скелетною травмою. Доведено, що впродовж 2 тижнів травматичної хвороби відзначається дефіцит Т-клітин ($CD3^+$, $CD4^+$), не залежний від особливостей лікування. Зниження співвідношення $CD4^+/CD8^+$ у пацієнтів 1 групи формувалося за рахунок зниження кількості Т-хелперів і підвищення Т-супресорів, що призводило до дисбалансу в Т-системі з 1 по 14 добу. Зниження концентрації IgG в сироватці крові сприяло розвитку септичних ускладнень у посттравматичному періоді [5]. Введення рекомбінантного ІЛ-2 людини на 2 і 5 добу після політравми дозволяло підтримувати абсолютну кількість лімфоцитів у межах норми, стимулювало гуморальну ланку імунітету за рахунок загальної кількості В-лімфоцитів, більш вираженому підвищенню NK-клітин ($CD56^+$), попереджало зниження IgG протягом 14 діб, попереджало розвиток септичних ускладнень.

Проведення кореляційного аналізу довело, що на 7 і 14 добу після травми підвищення рівня ІЛ-2 на тлі використання рекомбінантного ІЛ-2 людини у пацієнтів 2 групи сприяло зниженню рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) ($R=-0,83$; $p=0,003$ і $R=-0,89$; $p=0,019$), збільшенню концентрації IgG в сироватці крові ($R=0,62$; $p=0,057$ і $R=0,93$; $p=0,008$, відповідно), збільшенню абсолютної кількості лімфоцитів крові ($R=0,51$; $p=0,016$ і $R=0,86$; $p<0,001$ відповідно). Введення рекомбінантного ІЛ-2 людини на 14 добу спостереження корелювало з нормалізацією рівня $CD3^+$ ($R=0,62$; $p=0,010$). На тлі введення рекомбінантного ІЛ-2 людини на 14 добу після травми визначили взаємозв'язок між підвищенням рівня ІЛ-2 і динамікою $CD8^+$ ($R=-0,96$; $p=0,003$), що супроводжувалось збільшенням імунорегуляторного індексу ($CD4^+/CD8^+$) на цьому етапі спостереження ($R=0,95$; $p=0,003$).

Таким чином, результати проведеного дослідження вказують на доцільність використання рекомбінантного ІЛ-2 як метода випереджаючої інтенсивної терапії в ранньому постшоковому періоді для попередження виснаження адаптаційних механізмів імунної відповіді на фоні перебігу раннього періоду травматичної хвороби. Це дозволяє зменшити кількість септичних ускладнень упродовж цього періоду у пацієнтів з політравмою на фоні переважання середньотяжкої та тяжкої скелетної травми.

ВИСНОВКИ

1. На тлі перебігу травматичної хвороби, обумовленої скелетною травмою, на 7 добу виз-

начається зниження індукованої продукції ІЛ-2, що супроводжується наявністю вірогідного кореляційного зв'язку з розвитком синдрому поліорганної недостатності.

2. Введення рекомбінантного ІЛ-2 людини обумовлює вірогідне поступове зростання рівня ІЛ-2 плазми крові на 7 і 14 добу після травми, що корелює зі зниженням вірогідності розвитку пневмонії на 7 і 14 добу після травми. Використання рекомбінантного ІЛ-2 людини сприяє зниженню ускладнень перебігу травматичної хвороби, зокрема вірогідно корелює зі зменшенням частоти розвитку синдрому поліорганної недостатності.

3. Підвищення рівня ІЛ-2 на тлі використання рекомбінантного ІЛ-2 людини сприяє зниженню рівня циркулюючих імунних комплексів на 7 і 14 добу після травми, збільшенню концентрації IgG в сироватці крові, збільшенню абсолютної кількості лімфоцитів крові, корелювало з нормалізацією рівня $CD3^+$, збільшенням імунорегуляторного комплексу на 14 добу спостереження. Введення рекомбінантного ІЛ-2 людини на 2 і 5 добу після політравми попереджає розвиток гнійно-септичних ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Булава Г.В. Состояние иммунной системы пострадавших с проникающими ранениями груди и живота, осложненными массивной кровопотерей / Г.В.Булава, М.М.Абакумов, В.Б.Хватов // Хирургия. — 2001. — №4. — С. 49-54.
2. Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокинотерапия хирургического сепсиса: пособие для врачей / В.К.Козлов. — СПб.: Ясный свет, 2002. — 48 с.
3. Козлов В.К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе травматической болезни / В.К.Козлов // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О.Можаєва. — 2005. — Т.6. — №3. — С. 5-16.
4. Котельников Г.П. Травматическая болезнь / Г.П.Котельников, И.Г.Чеснокова. — М.: Медицина, 2001. — 178 с.
5. Матолінець Н.В. Імунореактивність при політравмі з домінуванням скелетної травми / Н.В.Матолінець, О.М.Клигуненко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2010. — Т.5. — №2. — С. 134-137.
6. Политравма: травматическая болезнь, дисфункция иммунной системы, современная стратегия лечения / Под ред. Е.К.Гуманенко, В.К.Козлова. — М.: ГО-ЭТАО-Медиа, 2008. — С. 204-241.
7. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций человека / А.С.Симбирцев // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т.1. — №1. — С. 9-17.
8. Четкин А.В. Нарушения иммунной системы при тяжелых травмах и методы их коррекции /

- А.В.Чечеткин, Г.Н.Цыбуляк // Вестник интенсивной терапии. — 2004. — №1. — С. 70-74.
9. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А.А.Ярилин // Иммунология. — 1997. — №5. — С. 7-14.
 10. Мінцер О.П. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині / О.П.Мінцер, Ю.В.Вороненко, В.В.Власов. — К.: Медицина, 2000. — 544 с.
 11. Wichmann M.W. Severe depression of host immune functions following bone fracture, soft-tissue trauma and hemorrhagic shock / M.W.Wichmann, A.Ayala, I.H.Chaurry // Crit. Care Med. — 1998. — Vol. 26. — P. 1372-1378.
 12. Mancini I. Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion / I.Mancini, A.Carbone, T.Nuremans // Immunochemistry. — 1965. — Vol. 235. — №2. — P. 235-239.

Н.В.Матолінець, Л.Е.Лаповець. Динаміка провоспалительного інтерлейкіна-2 при множинній скелетній травмі. Львів, Україна.

Ключевые слова: політравма, множинна травма, імунореактивність, рекомбінантний інтерлейкін-2 людини.

Изучено вплив рекомбінантного інтерлейкіна-2 людини на стан імунітету і кількість гнійно-септичних ускладнень у хворих з політравмою на фоні превалірування скелетної

травми. Определено, що введення рекомбінантного інтерлейкіна-2 людини на 2 і 5 сут. після політравми обумовило достовірне збільшення рівня інтерлейкіна-2 плазми крові на 7 сут. ($R=0,86$; $p=0,001$) і 14 сут. ($R=0,85$; $p=0,002$) після травми, сприяло зниженню ускладнень течения травматической болезни ($R=-0,48$; $p=0,011$), достовірно корелювало з зменшенням частоти розвитку поліорганної недостаточности ($R=-0,59$; $p<0,001$).

N. V. Matolinetz, L. Y. Lapovets. Changes of pro-inflammatory interleukine-2 level in multiple skeletal trauma patients. Lviv, Ukraine.

Key words: multiple trauma, polytrauma, immune reactivity, recombinant human interleukine-2.

The paper focuses on the impact of recombinant human interleukine-2 on immune status and on the number of septic complications in multiple traumatic injury with prevailing skeletal injury. Administration of recombinant human interleukine-2 on days 2 and 5 after multiple traumatic injury has been demonstrated to induce significant increase of plasma interleukine-2 level on days 7 ($R=0,6$; $p=0,01$) and 14 ($R=0,85$; $p=0,002$) after injury, as well as to decrease the incidence of complications of traumatic injury ($R=-0,48$; $p=0,011$) and to correlate with decrease of multiple organ failure incidence ($R=-0,59$; $p<0,001$).

Надійшла до редакції 30.01.2011 р.