УДК 616-056.3:616.022.8:616-08

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 ПРИ ПОЛЛИНОЗЕ В СЕЗОН ОБОСТРЕНИЯ

Г.М. Курманова, А.Ю. Акпарова, Р.Е. Уразбаева

Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова, кафедра интернатуры по терапии, Восточно-Казахстанский филиал РГКП «Национальный центр гигиены туда и профзаболеваний»

Проводилось рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование клинического и иммунологического эффекта применения рекомбинантного интерлейкина 2 у больных поллинозом в период обострения. Группа больных составила 44 человека. У больных, получавших рекомбинантный ИЛ-2 при обострении поллиноза, клиническая эффективность выражалась в быстром купировании симптомов заболевания, достоверном повышении функции внешнего дыхания (уменьшения обструкции по данным спирографии).

При положительном эффекте применения рекомбинантного ИЛ-2 у больных отмечалась нормализация показателей иммунного статуса с повышением уровня экспрессии CD25.

Ключевые слова: поллиноз, рекомбинантный интерлейкин 2.

Поллиноз занимает особое место среди аллергозов, распространенных в Республике Казахстан. Растущее количество автомобильного транспорта городов и районов, проблема загрязнения атмосферного воздуха выбросами промышленных предприятий приводит к повышению заболеваемости населения аллергозами респираторного тракта. Кроме того, на распространенность поллиноза влияют особенности растительности региона, условия климата, географической зоны [1, 2]. В структуре заболеваемости аллергической патологии сезонный аллергический ринит составляет от 12% до 45% [3, 4, 5]. Симптомы поллиноза приводят к ухудшению качества жизни больных в период обострения, снижению трудоспособности, а при не леченых формах заболевания поллиноз может привести к развитию пыльцевой бронхиальной астмы с тяжелым течением и инвалидности.

Поллиноз – это классическое атопическое заболевание с 1 типом аллергической реакции, с преимущественным поражением верхних дыхательных путей и глаз. В патогенезе развития поллиноза ведущее место отводится Тх 2 –типу иммунного ответа. Тх1 и Тх2 представляют собой альтернативные состояния экспрессии генов и функции CD4 Т-лимфоцитов [6]. Тх1 и Тх2-зависимые иммунологические реакции взаимно подавляют друг друга на всех уровнях развития иммунного ответа [7]. Исследования возможности фармакологического воздействия на подавление Тх2 иммунологических реакций в лечении атопических заболеваний являются одним из перспективных современных направлений в иммунологии [8].

Ронколейкин – рекомбинантный ИЛ-2 – лекарственный препарат, получаемый из клеток-продуцентов рекомбинантного штамма непатогенных пекарских дрожжей, в генетический аппарат которых встроен ген человеческого ИЛ-2. Основное фармакологическое действие ронколейкина заключается в активации и индукции клеток-мишеней – Т-, В- и NK-клеток, содержащих рецептор CD25. Действие ронколейкина позволяет восстанавливать баланс между Тх1 и Тх2 типами иммунного ответа, дифференцировкой В-клеток и продукции иммуноглобулинов.

Научные исследования цитокиновых препаратов в мировой практике ведутся уже более 15 лет. Клиническое применение российского препарата ронколейкина начато в 1995 г. В аллергологии ронколейкин успешно применялся при атопическом дерматите [9], бронхиальной астме у взрослых и детей [10]. В условиях превалирования Тх2-зависимого иммунного ответа введение экзогенного рекомбинантного ИЛ-2 способно выровнять баланс между типами иммунного ответа и способствовать уменьшению клинических проявлений атопических заболеваний.

С целью определения клинико-иммунологической эффективности рекомбинантного ИЛ-2 у больных поллинозом в период обострения было проведено рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование.

Материал и методы исследования.

Группа обследованных составила 44 больных (21 женщина и 23 мужчин), средний возраст которых был 33±6,2 года (18-47), находившихся на стационарном лечении в аллергологическом отделении Восточно-Казахстанского филиала РГКП «Национальный центр гигиены труда и профзаболеваний» в июле-августе месяцах 2005 года с обострением заболевания.

Длительность обострения в среднем была 3±0,99 месяцев (1-7). Давность заболевания 7,4 лет ±4,5 (2-20). Ведущим синдромом при обострении у больных был риноконъюнктивальный (44). Отек Квинке как проявление поллиноза был у 1-го больного, контактный дерматит у 5-и, аллергический бронхит (предастма) у 10-и, явления бронхоспазма (сенная астма) у 9-и больных. Пик обострения все больные отмечали в июле-августе (сезон пыления полыней, конопли, лебеды).

Частые простудные заболевания в анамнезе отмечали 12 больных (более 4-х раз в год), хронических гайморит – 2, хронических тонзиллит – 5, хронических холецистит - 2, хронических гастрит – 4, хронических пиелонефрит – 1, хронических сальпингоофорит– 1.

При поступлении все больные получали традиционную терапию: антигистамины в/м и внутрь, тиосульфат натрия в/в капельно, кетотифен, интраназально: декоденстанты, топические кортикостероиды (насобек, назонекс), кромоглин. При наличии бронхоспастического синдрома назначался эуфиллин в/в капельно или пролонгированные теофиллины (теофил, теотард, теопэк), муколитики: амбробене или бромгексин, ингаляционные кортикостероиды: беклометазона дипропионат и кортикостероиды в/в (1 больной), при необходимости β2-адреномиметики (сальбутамол).

Группа, получившая рИЛ-2, составила 30 человек, плацебо – 14 человек. Рекомбинантный ИЛ-2 (Ронколейкин) вводился в виде подкожных инъекций в дозе 250 тыс. МЕ через 48 часов №5 или по 500 тыс. МЕ через 72 часа №3. 9 больных получили 3 инъекции рИЛ-2, 21 больной – 5 инъекций. Препарат вводился на фоне проводимой терапии. У 3-их больных была местная гиперемия на введение препарата, которая проходила через 3-7 часов. Общее самочувствие больных не нарушалось.

Иммунологическое обследование проводилось перед началом терапии и по ее окончание. Для оценки иммунологических изменений забор крови производился в количестве 5 мл, антикоагулянт - гепарин. Лимфоциты выделяли на градиенте плотности фиколл - верографин $\rho = 1{,}077$ г/мл. Субпопуляционный анализ лимфоцитов проводили методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+, CD56+, а также CD25+ с учетом результатов на проточном цитофлюорометре FacsCalibur» (Becton Dickenson/США). Контрольная группы здоровых людей составила 32 человека в возрасте от 18 до 45 лет.

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили с использованием критерия t Стьюдента и методов связных выборок. Различия между сравниваемыми группами и цифрами считали достоверными при $p < 0{,}05$- 0,01 - 0,02 - 0,001.

Клиническую эффективность лечения оценивали по выраженности синдромов поллиноза с расчетом клинического индекса (КИ). Клинический индекс включал в себя сумму баллов при оценке следующих синдромов: ринита, конъюнктивита, крапивницы, отека Квинке, контактного дерматита, фарингита, трахеита, бронхита, астмы, пыльцевой интоксикации. Оценку синдромов проводили ежедневно до начала терапии рИЛ-2 и спустя 2 недели. Отсутствие синдрома оценивали в 0 баллов, слабо выраженный – 1 балл, умеренно выраженный – 2 балла, максимально выраженный – 3 балла.

Результаты и обсуждение.

Оценивая результаты комбинированного лечения (с назначением рекомбинантного ИЛ-2 – ронколейкина) мы получили следующую картину: положительный клинико-иммунологический результат был у 12 из 30 больных. У 18 больных выраженных изменений в сравнении с плацебо группой не наблюдали (таблица 1).

Риноконъюнктивальный синдром является ведущим в клинике поллиноза. Симптомы конъюнктивита прошли у 23-х больных ко 2-му дню госпитализации, у 7-х – к третьему. Ринит по сравнению с остальными симптомами труднее подвергался регрессии. Эффект от лечения в основном наблюдался на 7-8 сутки. При выписке выраженность симптомов в 2 балла была у 11/30 больных, 1 балл – 14/30 больных, 0 баллов – 5/30 больных.

Интенсивность проявлений фарингита в динамике уменьшилась в 3 раза (таблица 1). Симптоматика в 3 балла сохранялась у 1-го больного, 2 балла у 6-и больных, 1 балл – у 8-и и отсутствовала у 15-и больных.

На фоне лечения рИЛ-2 из 12 больных с поражением нижних дыхательных путей у 10-х симптомы бронхоспазма купировались на 2-3 день после поступления. Из 6 больных с приступами удушья у 3-их симптомы не наблюдалось уже на вторые сутки, у 3-их на третьи. Одышка, сухие свистящие хрипы в легких были при поступлении у 10 больных. Нормализа-

цию аускультативной картины у всех больных наблюдали к 3-му дню. Кашель купировался у 12/21 больных на 7-8 день госпитализации, у 5-х больных сохранялся после выписки.

Таблица 1 - **Динамика симптомов ринита, конъюнктивита и фарингита у больных поллинозом на фоне применения рИЛ-2.**

Баллы	Конъюнктивит		Ринит		Фарингит	
	до	после	до	после	до	после
0 баллов	4	24	0	5	3	15
1 балл	8	1	3	14	5	8
2 балла	13	0	7	11	10	6
3 балла	5	0	20	0	12	1
всего баллов	49	1	77	36	61	21

По результатам спирографии были выявлены нарушения функции внешнего дыхания по обструктивному типу. В таблице 2 показана динамика показателей ФВД у больных поллинозом с поражением верхних и нижних дыхательных путей с применением рИЛ-2 и плацебо. В группе больных, получивших рИЛ-2, отмечено достоверное повышение показателей $ОФВ_1$, $МОС_{25}$, индекса Тиффно ($p<0,05$).

Таблица 2 – **Динамика параметров функции внешнего дыхания у больных поллинозом в период обострения при применении рИЛ-2.**

	Период наблюдения	Показатели функции внешнего дыхания (%)					
		ФЖЕЛ	$ОФВ_1$	$МОС_{25}$	Индекс Тиффно	$СОС_{25/75}$	$МСВ_{2, л/сек}$
рИЛ-2	до лечения	92,3±4,1	75,3±3,4	61,5±2,8	65,3±3,3	42,6±3,2	156,1±12,3
	после лечения	98,2±4,2	86,6±3,2*	72,3±3,4*	75,4±3,7*	47,1±2,8	173,2±13,1
плацебо	до лечения	93,1±4,1	76,3±3,3	62,4±3,2	67,4±3,4	43,1±3,5	162,3±13,6
	после лечения	98,3±4,3	81,3±3,3	66,2±3,1	72,3±3,2	48,6±3,4	172,4±12,6
контрольная группа		98,3±4,2	98,7±3,4	87,2±3,5	68,2±3,6	68,8±4,1	178,2±12,3
Примечание - * различия с исходным значением показателя, достоверны *-$p<0,05$							

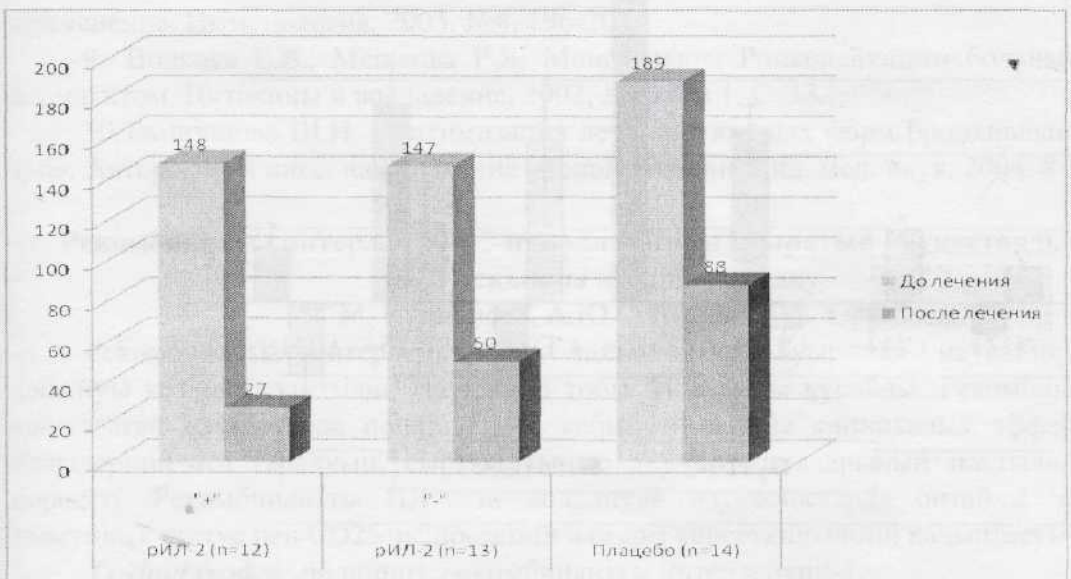


Рисунок 1 - Динамика клинических симптомов за 14 дней госпитализации (в баллах).

Отек Квинке был у 1 больного, симптомы исчезли на 2-е сутки госпитализации. У 3-их больных был контактный дерматит. У 2-их кожный зуд и высыпания прошли на 4-5 день, у 1-го слабо выраженный зуд сохранялся при выписке.

При анализе полученных результатов в группе с хорошим и отличным клиническим эффектом мы получили исходно низкие иммунологические показатели. Относительное количество лимфоцитов было снижено на 21%, абсолютное на 31,6%, абсолютное содержание CD3+ клеток на 24,5%, Т-хелперов на 5,5% относительных и 28% абсолютных, В-лимфоцитов на 19% относительных и 5,5% абсолютных (рисунок 2). Снижение CD4+ клеток на фоне снижения содержания зрелых Т-лимфоцитов свидетельствует о нарушении процессов дифференцировки Т-лимфоцитов и превалировании функционально незрелых клеток.

В клинической картине больных преобладало поражение нижних дыхательных путей (11/12 больных) в сочетании с риноконъюнктивитом (12/12), дерматитом (1/12).

Группа с отсутствием значительной положительной клинико-иммунологической динамики от лечения составила 18 человек. При поступлении у них наблюдали преимущественно риноконъюнктивальный синдром различной степени выраженности (18/18 больных). Явления бронхита были у 1-й больной при поступлении. В иммунном статусе у этой больной выраженных отклонений выявлено не было.

При анализе основных популяций лимфоцитов методом связных выборок была получена противоположная иммунологическая динамика в зависимости от наличия или отсутствия в лечении рИЛ-2. В группе, получившей рИЛ-2 достоверно повысилось содержание зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов, NK-клеток, экспрессирующих маркер CD16, Т-активированных лимфоцитов, снизилось количество Т-цитотоксических клеток и В-лимфоцитов ($p<0,001$). В группе, получившей плацебо, наблюдали уменьшение относительных показателей Т-лимфоцитов, Т-хелперов, NK-клеток, повышение Т-цитотоксических лимфоцитов, CD56+ клеток, В-лимфоцитов. Только показатели Т-активированных лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2 достоверно повысились в обеих группах ($p<0,001$) (рисунок 2).

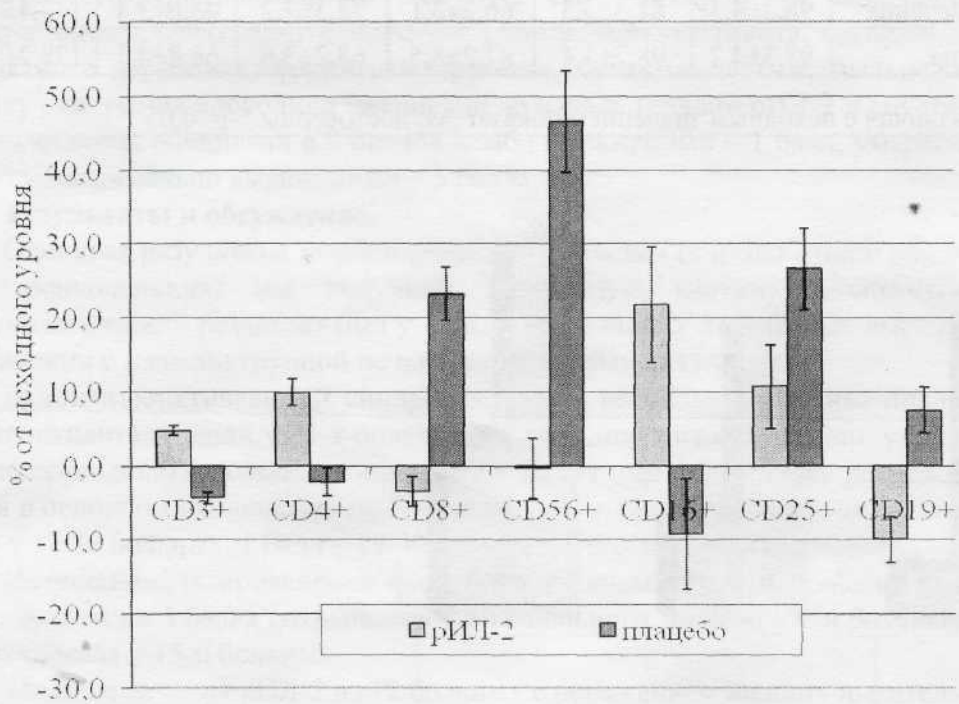


Рисунок 2 – Изменение относительного содержания лимфоцитов основных популяций при применении рИЛ-2 в период обострения.

Изменение абсолютных показателей основных популяций лимфоцитов у больных поллинозом в период обострения с применением рИЛ-2 и плацебо соответствовало изменениям относительных показателей.

В динамическом наблюдении за пролеченными больными в течение 1 года после проведенного лечения наблюдали уменьшение количества простудных заболеваний (ОРЗ и ОРВИ) в группе, получившей рИЛ-2 на 45,5%, в группе, получившей плацебо на 9,8% по сравнению с предыдущим годом.

Таким образом, включение рИЛ-2 в комплексную терапию поллиноза в период обострения способствовало быстрой и стойкой нормализации состояния больных. Клинический эффект рИЛ-2 можно объяснить подавлением специфического воспаления в органах-мишенях, восстановлением баланса между Тх1 и Тх2 типами иммунного ответа с угнетением IgE-зависимых реакций. Стимуляция Тх1-зависимого ответа отразилась в нормализации показателей клеточного звена иммунитета и повышением уровня клеток, несущих рецептор к ИЛ-2. Эффективность рИЛ-2 может быть связана и со стимуляцией противовирусного иммунитета, что выразилось в повышении уровня CD16+ лимфоцитов.

Клинический эффект выражался не только в быстром купировании симптомов заболевания, достоверном повышении функции внешнего дыхания (уменьшения обструкции по данным спирографии), но и снижением числа простудных заболеваний и количества обострений сопутствующих хронических заболеваний в течение года после проведенного курса лечения.

Литература:

1. Беклемишев Н.Д. Ермекова Р.К., Мошкевич В.С. Поллинозы // М.: Медицина. -1985. – С. 239 .

2. Мошкевич В.С. Поллиноз // Алматы, 2004г.- С. 49-61.

3. Манжос М.В., Рыжкин Д.В., Желтикова Т.М. Особенности течения поллиноза и аэропалинологическая характеристика в г.Пензе // Аллергология.- 2004. - №2. – С. 29-33.

4. Адо А.Д., Адрианова Н.В. Частная аллергология // Москва.- 1976.- 512с.

5. Балаболкин И.И. Распространенность, диагностика и лечение поллиноза у детей // Аллергология.- 1998.- №2. – С. 41-45.

6. Abbas A., Murphy K., Sher A. // Nature. – 1996. – Vol. 383. – P. 787-793.

7. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета. Иммунология, 2002, №2, 77-79.

8. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение. Иммунология, 2003, №4, 196-203.

9. Волкова Е.В., Мешкова Р.Я. Монотерапия Ронколейкином больных атопическим дерматитом. Цитокины и воспаление, 2002, №2, том 1, С. 33.

10. Рамазанова Ш.Н. «Оптимизация лечения тяжелых форм бронхиальной астмы у детей». Автореферат дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. 2004. 8-25.

Рекомбинанты интерлейкин-2-ні поллинозбен ауыратын науқастардың аурудың асқынуы кезінде қолдану

Г.М. Құрманова, А.Ю. Ақпарова, Р.Е. Оразбаева

Рекомбинанты интерлейкин-2-ні поллинозбен ауыратын науқастардың аурудың қабынуы кезінде жүргізілді. Науқастар тобы 44 адамды курайды. Рекомбинантты ИЛ-2-ні қабылдаған науқастарда поллиноздың қабынуы кезінде клиникалық эффектілік аурудың белгілерінің тез таралуын, сыртқы тыныс алу функцияларының нақтылы жоғарылауын көрсетті. Рекомбинантты ИЛ ні қолдануда науқастастарда оңтайлы эффект кезінде иммундық статус пен CD25 экспрессінің жоғары көрсеткіштілінің қалыптасуы белгіленді.

Түйінді создер: поллиноз, рекомбинантты интерлейкин-2.

Experience of recombined interleukine-2 application at pollinosis in acute condition

G.M. Kurmanova, A.U. Akparova, R.E. Urasbaeva

Placebo-controlled double blind study of 44 pollinos patients on clinic and immunological effect of use of recombinant interleukin 2 was conducted during acute period. The application of r-IL-2 during acute period promotes rapid relief of symptoms and improves the function of external breathing. The application of RIL-2, during pollinos acute period showed the treatment effectiveness, the patients had obvions clinical improvement and normalization of quantity of immune status with increase of level of expression CD25.

Key words: pollinosis, recombinant interleukin-2.