

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Останин А.А., *Пальцев А.В., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я., Черных Е.Р.

Институт клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

*Муниципальная клиническая больница №12, г. Новосибирск

Резюме. С целью достижения эффективной иммунокоррекции и улучшения клинических результатов было предложено усилить комплексное лечение хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями проведением экстракорпоральной иммунотерапии (ЭИТ) с использованием аутологичных моноклеарных клеток, активированных рекомбинантным ИЛ-2. ЭИТ была проведена у 121 больного с тяжелыми и генерализованными формами хирургической инфекции. Количество процедур варьировало от 1 до 3, курсовая доза вводимых клеток – от 0,5 до 3,5 x 10⁹/больного. Предложенный протокол иммунотерапии отличался хорошей переносимостью. Проведение ЭИТ сопровождалось эффективной коррекцией Т-клеточного иммунодефицита и восстановлением функции моноцитов; быстрым снижением проявлений эндотоксикоза; усилением ответа на традиционную терапию и, как следствие, снижением уровня летальности не только в целом по группе обследованных больных (с 21,1 до 8,2 %, p=0,017), но и среди пациентов с хирургическим сепсисом и/или разлитым гнойным перитонитом (с 33,3 до 11,4 %, p=0,008) и эндотоксикозом тяжелой/крайне тяжелой степени выраженности (с 25,0 до 8,9 %, p=0,009). Проведенные исследования показывают, что применение экстракорпоральной иммунотерапии с использованием аутологичных ИЛ-2-активированных клеток за счет иммунокорригирующего действия позволяет значительно повысить эффективность лечения хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями.

Ключевые слова: иммунотерапия, цитокины, ИЛ-2, гнойно-септические заболевания

*Ostaniin A.A., *Paltsev A.V., Lepolina O.Yu., Shevela C.Ya., Chernykh H.R.*

THE EXPERIENCE OF SURGICAL INFECTIONS TREATMENT WITH EXTRACORPORAL IMMUNOTHERAPY

Abstract. To achieve the effective immunocorrection and clinical improvement we have proposed to strengthen the complex treatment of patients with purulent surgical infections by extracorporeal immunotherapy (EIT) with autologous rIL-2-activated mononuclear cells. EIT was performed in 121 patients with severe and generalized surgical infections. The quantity of EIT procedures varied from 1 to 3, total numbers of infused IL-2-treated cells ranged from 0,5 to 3,5 x 10⁹/patient. The protocol for EIT was safe and well tolerated. The performance of EIT was accompanied by effective correction of T-cell immunodeficiency and reconstitution of monocytic functions; rapid diminishing of endotoxicosis signs; acceleration of response to conventional therapy and, as result, reducing of the overall group mortality from 21,1 to 8,2 % (p=0,017). Moreover the mortality was also reduced in patients with surgical sepsis and/or purulent peritonitis (from 33,3 to 11,4 %, p=0,008) and in patients with severe endotoxiosis (from 25,0 to 8,9 %, p=0,009). Our study demonstrates that the using of extracorporeal immunotherapy with autologous IL-2-treated cells due to immunological improvements allow us to enhance significantly the efficiency of treatment of patients with purulent surgical infections. (*Med. Immunol.*, 2000, vol. 2, № 1, pp 43-51)

Адрес для переписки: Останин Александр Анатольевич
6300091, Новосибирск, Ядринцевская ул., 14.

Институт клинической иммунологии СО РАМН, Лаборатория клеточной иммунотерапии

Тел. (3832) 28-21-01 Факс. (3832) 22-70-28

E-mail: ctlab @ drbit.ru

Введение

Рост частоты и тяжести гнойно-септических заболеваний и послеоперационных осложнений в хирургической практике в последние годы вызывает особую тревогу. Так, по данным В.С.Савельева, гнойно-воспалительные заболевания составляют 35–40% среди всех госпитализируемых в хирургические отделения больных, а частота развития послеоперационных инфекционных осложнений достигает в среднем 30% [6]. Социальная значимость проблемы обусловлена также сохраняющимся уровнем летальности, который при таких тяжелых и генерализованных формах хирургической инфекции, как разлитой гнойный перитонит (РГП) и сепсис, варьирует от 30 до 75%. Поэтому, несмотря на достижения современной антибактериальной и интенсивной терапии, улучшение результатов лечения больных с гнойно-хирургической патологией признается чрезвычайно актуальной научно-практической задачей.

До недавнего времени одной из главных причин неблагоприятного развития гнойно-септических заболеваний считали неконтролируемую продукцию различных медиаторов воспаления и, в первую очередь, провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IFN- γ), с действием которых связывали развитие бактериально-токсического шока, дистресс-синдрома, ДВС-синдрома [16, 17, 19, 26]. Соответственно, предполагалось, что терапевтические стратегии, направленные на нейтрализацию потенциально повреждающих медиаторов воспаления, могут предупредить развитие этих тяжелых осложнений и снизить летальность больных с генерализованными формами инфекции. Действительно, в экспериментальных исследованиях моноклональные анти-TNF-антитела, рекомбинантные TNF-рецепторы, антагонисты рецептора IL-1, если их вводили до или в первые часы после бактериального заражения, повышали выживаемость лабораторных животных [30]. Однако многоцентровые клинические испытания не подтвердили эффективности препаратов этой группы, а в некоторых случаях показали отрицательный результат [18, 27].

В 1996-97 гг. сформировалась концепция [12, 13], которая в определенной степени объясняет причины неудач проведенных клинических испытаний. Согласно данной концепции вслед за начальным высвобождением провоспалительных медиаторов в организме больного индуцируется запуск противовоспалительной реакции. Обозначенная как синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (CARS, compensatory anti-inflammatory response syndrome), противовоспалительная реакция направлена на снижение синтеза или модуляцию эффектов провоспалительных медиаторов, ослабление проявлений системного воспаления и восстановление исходного гомеостаза. Однако чрезмерная выраженность CARS может индуцировать развитие глубокой

иммунодепрессии, что приводит к полной неспособности организма противостоять бактериальной агрессии и часто обозначается как состояние “иммунопаралича” [14, 29]. Свидетельством несостоятельности иммунной защиты в этом случае является хронизация или диссеминация инфекции, смена патогенной флоры с развитием микст- или нозокомальной инфекции, нарушение процессов репарации и т.д. [21, 28].

В свете такого представления патогенеза инфекционно-воспалительного процесса становится ясно, что баланс про- и противовоспалительных реакций должен учитываться при выборе средств и методов иммунокорректирующей терапии гнойно-септических заболеваний. Очевидно, что противовоспалительная, например, антицитокиновая терапия оправдана только в случае крайней выраженности системного воспалительного ответа. Наоборот, при несбалансированном или пролонгированном течении CARS обосновано применение препаратов с провоспалительной активностью, среди которых наиболее перспективным представляется использование провоспалительных цитокинов. Как известно, цитокины этой группы, наряду с запуском воспалительной реакции и усилением неспецифических механизмов противоинфекционной защиты, эффективно стимулируют развитие специфического иммунного ответа и активируют репаративные процессы в поврежденных тканях [2, 7]. Кроме того, являясь функционально активными иммунорегуляторными факторами, цитокины не требуют значительного интервала времени для реализации своего эффекта, что чрезвычайно важно при лечении неотложных состояний.

Однако короткий период полужизни большинства цитокинов, высокий их клиренс и быстрое выведение из организма больного [20] вынуждают врачей, как правило, использовать либо высокие дозы цитокинов (что чревато развитием выраженных токсических реакций), либо контрпульсивные инфузии препаратов [11, 25]. В связи с этим более перспективным, на наш взгляд, является экстракорпоральный вариант проведения цитокинотерапии. Такой подход позволяет значительно снизить концентрацию используемых цитокинов, и, следовательно, предупредить развитие побочных реакций, и избежать токсического/иммунодепрессивного действия метаболитов в условиях эндотоксикоза. Реинфузия больному аутологических клеток с восстановленными *ex vivo* свойствами способствует эндогенной активации иммунной системы [15], и может явиться пусковым фактором для последующей реинтеграции различных звеньев иммунитета даже при несбалансированном или пролонгированном варианте течения CARS (развитии состояния “иммунопаралича”) [3].

В настоящей работе представлены результаты открытых, контролируемых (нерандомизирован-

ных) проспективных исследований, демонстрирующие иммунокорректирующую, детоксикационную и клиническую эффективность экстракорпоральной иммунотерапии (ЭИТ) при лечении хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями.

Материалы и методы

Характеристика больных

В исследование были включены 173 хирургических больных. Основную группу составили пациенты (n=121), комплексное лечение которых дополнялось проведением экстракорпоральной иммунотерапии. Группа сравнения (n=52), сформированная методом сплошной выборки, была представлена больными, лечение которых (в условиях того же хирургического стационара и в те же временные сроки) осуществлялось в рамках общепринятых схем, но без использования ЭИТ. Как видно из данных таблицы 1, пациенты из сравниваемых групп были однородны по полу, среднему возрасту, структуре основных нозологических форм, частоте развития эндотоксикоза тяжелой/крайне тяжелой степени и генерализованных осложнений.

Протокол ЭИТ

Экстракорпоральная иммунотерапия выполнялась в соответствии с ранее разработанным нами патентом [9]. Кратко, проведение ЭИТ включало гемооксфузию в объеме 200-300 мл крови (отмытые аутоэритроциты возвращались больному в этот же день), выделение мононуклеарных клеток (МНК), культивирование их с рекомбинантным IL-2 (НПО "Вектор", г. Новосибирск) в дозе 100 Ед/мл в полной культуральной среде RPMI-1640 в течение 24-48 ч и последующую в/в реинфузию IL-2-активированных клеток пациенту.

В целом по группе были выполнены 173 процедуры экстракорпоральной обработки клеток крови цитокинами. У большинства больных (77 человек) ле-

чение ограничивалось однократной процедурой ЭИТ. В том случае, если клинически значимого эффекта сразу достичь не удавалось, то процедуру повторяли. Так, у 39 больных была выполнена двукратная, и в 5 случаях – трехкратная обработка клеток (интервал между процедурами 5-7 дней). Курсовая доза вводимых клеток варьировала от 0,5 до 3,5 x 10⁹/больного.

Клинико-лабораторные исследования

Клинико-лабораторные исследования проводили до начала и на 5-7 сутки после окончания процедуры ЭИТ. Оценка клинического статуса больного включала измерение температуры тела, определение состояния кожных покровов, регистрацию частоты сердечных сокращений (ЧСС), частоты дыхательных движений (ЧДД), измерение артериального давления (АД). По результатам общего анализа крови рассчитывались абсолютный лимфоцитоз (АЛ) и лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ). Проводился также биохимический анализ крови с определением уровня молекул средней массы (МСМ) скрининговым методом. В качестве интегрального критерия тяжести заболевания у всех больных с гнойно-хирургической патологией оценивалась выраженность (средней, тяжелой, и крайне тяжелой степени) синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ) [8].

Иммунологические исследования

Оценка иммунного статуса включала определение относительного и абсолютного содержания различных субпопуляций лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов, CD72⁺В-лимфоцитов) и моноцитов, экспрессирующих HLA-DR антигены, методом проточной цитофлюориметрии (FACS, Becton Dickinson) с помощью моноклональных антител (ТОО "Сорбент", Москва). В культурах МНК оценивали интенсивность спонтанной и митоген-индуцированной (конканавалин А, ConA, 15 мкг/мл) пролиферации (через 72 ч по включению ³H-тимидина) и продукции IL-2 (через 48 ч в биотесте), а также уровень спонтанной и митоген-индуцированной

Таблица 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

| Анализируемый показатель | Группы больных | |
|---|-----------------------------|-------------|
| | Традиционное лечение (n=52) | ЭИТ (n=121) |
| 1. Пол (мужчины/женщины) | 61,5 / 38,5 % | 63 / 37 % |
| 2. Средний возраст | 46 ± 2,9 | 45 ± 1,4 |
| 3. Нозологические формы: | | |
| - Заболевания органов брюшной полости | 50,0 % | 48,0 % |
| - Раневая инфекция | 48,0 % | 46,0 % |
| - Ангиогенный сепсис | 2,0 % | 6,0 % |
| 4. Генерализованные осложнения (РГП, сепсис) | 58,0 % | 65,0 % |
| 5. Эндотоксикоз тяжелой и крайне тяжелой степени выраженности | 84,6 % | 83,5 % |

(липополисахарид *E.coli*, ЛПС, 20 нг/мл) секреции TNF- α и IL-1 β (через 24 ч методом иммуноферментного анализа используя тест-системы НПО "Цитокин", Санкт-Петербург).

Статистический анализ

Математическая обработка полученных результатов проводилась методами описательной, параметрической и непараметрической статистики на персональном компьютере с использованием программы "Statistica 4.3".

Результаты исследования

Иммунокорректирующая эффективность ЭИТ

Сравнительный анализ показателей иммунитета до и после проведения иммунотерапии выявил четкий иммунокорректирующий эффект ЭИТ. Из данных таблицы 2 видно, что у больных на 5-7 сутки после окончания ЭИТ статистически достоверно увеличивалось относительное содержание CD3⁺, CD4⁺Т-клеток, абсолютное количество лимфоцитов и основных субпопуляций Т-клеток, а также их митогенная реактивность. Кроме того, повышалась эф-

фективность продукции TNF- α в ЛПС-стимулированных культурах.

Следует отметить, что обследованные больные с гнойно-хирургической патологией различались в зависимости от выраженности и проявлений иммунных расстройств, что, естественно, отразилось на интенсивности проведения иммунотерапии. Так, для достижения клинически значимого эффекта у пациентов с умеренно выраженными Т-клеточными нарушениями (как правило, не затрагивающими их функциональной активности) в 85 % случаев достаточно было однократной процедуры ЭИТ. В то же время, у 52 % пациентов с диагностированными функциональными расстройствами Т-лимфоцитов и у большинства больных с комбинированными Т-лимфоцитарно-моноцитарными дисфункциями (состоянием "иммунопаралича") устойчивый клинический и иммунокорректирующий эффекты достигались в результате проведения не менее 2-х процедур ЭИТ.

Анализ динамики иммунологических показателей в ходе проведения ЭИТ (до, после первой процедуры и по завершении лечения) у больных с функциональными нарушениями Т-клеток показал (табл. 3), что регрессия эндотоксикоза и увеличение количества лимфоцитов, субпопуляций Т- и В-кле-

Таблица 2. ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЭИТ

| Показатель | Доноры (n=13-73) | Группы больных | |
|-------------------------------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| | | До ЭИТ (n= 121) | После ЭИТ (n= 56) |
| АЛ x 10 ⁹ /л | 1,85 ± 0,09 | 1,65 ± 0,09 | 2,12 ± 0,07** |
| CD3 Т-кл % | 66,8 ± 1,0 | 53,3 ± 1,5 | 62,9 ± 1,7** |
| CD4 Т-кл % | 38,8 ± 1,3 | 23,0 ± 1,0 | 27,0 ± 1,8* |
| CD8 Т-кл % | 26,0 ± 1,0 | 19,7 ± 0,9 | 21,0 ± 1,4 |
| CD4/CD8 | 1,63 ± 0,09 | 1,27 ± 0,05 | 1,4 ± 0,07 |
| CD3 Т-кл x 10 ⁹ /л | 1,15 ± 0,07 | 0,89 ± 0,06 | 1,32 ± 0,07** |
| CD4 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,51 ± 0,06 | 0,37 ± 0,03 | 0,58 ± 0,05** |
| CD8 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,39 ± 0,06 | 0,32 ± 0,02 | 0,44 ± 0,04* |
| CD72 В-кл % | 16,0 ± 0,9 | 16,6 ± 0,9 | 16,5 ± 1,3 |
| CD72 В-кл x 10 ⁹ /л | 0,26 ± 0,03 | 0,29 ± 0,02 | 0,36 ± 0,03 |
| Спонт.пролиферация имп/мин | 2.490 ± 210 | 2.040 ± 140 | 1.680 ± 120 |
| СопА-пролиферация имп/мин | 58.330 ± 3.990 | 19.440 ± 1.690 | 28.500 ± 1.980** |
| ИВ _{СопА} | 35,0 ± 3,1 | 11,5 ± 1,0 | 18,9 ± 1,3** |
| HLA-DR моноциты % | 54,6 ± 2,7 | 36,5 ± 2,6 | 45,0 ± 4,3 |
| Спонт.продукция TNF- α пг/мл | 1.450 ± 180 | 1.540 ± 230 | 2.250 ± 430 |
| ЛПС-продукция TNF- α пг/мл | 1.950 ± 200 | 1.950 ± 240 | 2.960 ± 440* |
| Спонт.продукция IL-1 пг/мл | 1.660 ± 110 | 1.430 ± 390 | 1.400 ± 450 |
| ЛПС-продукция IL-1 пг/мл | 2.040 ± 110 | 2.040 ± 550 | 1.710 ± 440 |

Примечание: * - p < 0,05, ** - p < 0,01, достоверность различий показателей в группах больных до и после проведения ЭИТ; критерий Стьюдента для несвязанных выборок.

Таблица 3. ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ХОДЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЭИТ У БОЛЬНЫХ С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

| Показатель | До ЭИТ (n= 32) | После 1-ой процедуры ЭИТ (n= 14) | По окончании ЭИТ (n= 13) |
|--------------------------------|-------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| ЛИИ расч. ед. | 7,5 ± 1,0 | 3,0 ± 0,4** | 2,7 ± 0,4** |
| АЛ x 10 ⁹ /л | 1,19 ± 0,08 | 1,93 ± 0,22** | 2,38 ± 0,19** |
| CD3 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,53 ± 0,03 | 1,06 ± 0,15** | 1,31 ± 0,13** |
| CD4 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,24 ± 0,02 | 0,46 ± 0,06** | 0,59 ± 0,13** |
| CD8 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,21 ± 0,02 | 0,43 ± 0,08** | 0,43 ± 0,06** |
| CD72 В-кл x 10 ⁹ /л | 0,19 ± 0,02 | 0,37 ± 0,08** | 0,41 ± 0,06** |
| СопА-пролиферация | 15.290 ± 2.200 | 18.830 ± 4.080 | 31.330 ± 5.000** |
| ИБ _{СопА} | 6,3 ± 0,5 | 8,3 ± 1,9 | 17,2 ± 2,1**## |
| HLA-DR ⁺ моноциты % | 27 ± 3,5 | 42 ± 8,2 | 47 ± 3,8** |
| ЛПС-продукция TNF-α пг/мл | 1.520 ± 420 | 4.090 ± 1.700 | 2.510 ± 620 |

Примечание: ** - $p < 0,01$, достоверность различий показателей по сравнению с группой до начала проведения ЭИТ, ## - $p < 0,01$, достоверность различий показателей по сравнению с промежуточными (после первой процедуры ЭИТ) значениями. Критерий Стьюдента для несвязанных выборок.

ток происходили у больных уже после первой процедуры ЭИТ. Недостоверно возрастало относительное содержание HLA-DR⁺ моноцитов и интенсивность ЛПС-индуцированной продукции TNF-α. Однако митогенная реактивность клеток оставалась низкой (ИБ_{СопА} 8,3 ± 1,9). Только после проведения повторной процедуры ЭИТ регистрировали статистически достоверное усиление СопА-индуцированного пролиферативного ответа (ИБ_{СопА} 17,2 ± 2,1). По окончании лечения увеличивалось также относительное количество HLA-DR⁺ моноцитов, а интенсивность спонтанной и LPS-индуцированной продукции TNF-α сохранялась в диапазоне значений здоровых доноров.

У больных с диагностированным состоянием “иммунопаралича” (табл. 4) после окончания ЭИТ также происходило статистически достоверное восстановление абсолютного количества лимфоцитов, CD3⁺ и CD4⁺Т-клеток, усиление функциональной активности Т-клеток (интенсивности пролиферации) и моноцитов (уровня продукции TNF-α), что сопровождалось регрессией эндотоксикоза (снижением ЛИИ).

Клиническая эффективность ЭИТ

Клиническую эффективность ЭИТ оценивали по параметрам, характеризующим общее состояние больного, динамику раневого процесса, выраженность эндотоксикоза и по конечному результату лечения – исходу заболевания. Оценка других критериев, таких как, например, сокращение продолжительности койко-дня или сроков пребывания в палате интенсивной терапии, снижение частоты развития послеоперационных осложнений, представлялась нецелесообразной, поскольку во многих случа-

ях ЭИТ проводили по поводу уже развившихся гнойно-септических осложнений на поздних этапах развития хирургической инфекции.

Проведение ЭИТ сопровождалось положительными клиническими изменениями у подавляющего большинства пациентов. Нормализацию температуры тела регистрировали у 69 из 77 больных (89,6% случаев) уже на 1-3 сутки после окончания первой процедуры ЭИТ, и через 24 ч после повторной процедуры ЭИТ в 91% случаев. У 72% больных с РГП (28/39) в среднем на 2 сутки после окончания ЭИТ происходило полное разрешение пареза кишечника. От-

Таблица 4. ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЭИТ У БОЛЬНЫХ С СОСТОЯНИЕМ “ИММУНОПАРАЛИЧА”

| Показатель | До ЭИТ (n= 15) | После ЭИТ (n= 6) |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|
| ЛИИ расч. Ед. | 13 ± 3,2 | 2,4 ± 0,4** |
| АЛ x 10 ⁹ /л | 1,05 ± 0,22 | 2,07 ± 0,08** |
| CD3 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,35 ± 0,05 | 1,04 ± 0,04** |
| CD4 Т-кл x 10 ⁹ /л | 0,19 ± 0,03 | 0,43 ± 0,05** |
| СопА-пролиферация имп/мин | 9.460 ± 2.080 | 23.060 ± 3.670** |
| ИБ _{СопА} | 6,1 ± 0,8 | 15,4 ± 2,1** |
| HLA-DR ⁺ моноциты % | 27 ± 6,0 | 45 ± 3,5 |
| Спонт. продукция TNF-α пг/мл | 329 ± 43 | 1.197 ± 447** |
| LPS-продукция TNF-α пг/мл | 356 ± 58 | 1.807 ± 769** |

Примечание: ** - $p < 0,01$, достоверность различий показателей до и после ЭИТ; критерий Стьюдента для несвязанных выборок.

мечалась также положительная динамика раневого процесса: заживление лапаротомных ран первичным натяжением у 43% больных (25/58) с воспалительными заболеваниями органов брюшной полости; быстрое очищение ран, появление очагов грануляционного роста и краевой эпителизации на 4-6 сутки после ЭИТ у 75% больных (42/56) с гнойной инфекцией мягких тканей. В целом по группе 78% больных в течение 1-3 суток после окончания иммунотерапии отмечали субъективное улучшение самочувствия, выражающееся в исчезновении заторможенности, сонливости, слабости, ослаблении болевого синдрома, появлении аппетита, нормализации сна.

В течение 24-72 ч после окончания ЭИТ происходила регрессия клинико-лабораторных проявлений эндотоксикоза, проявляющаяся обрывом лихорадки, восстановлением микроциркуляции (нормализация цвета кожных покровов), показателей гемодинамики и функции внешнего дыхания. При этом статистически достоверно увеличивалось относительное содержание лимфоцитов, а показатели ЛИИ и МСМ снижались до уровня субнормальных значений (табл. 5). Восстановление других показателей гемограммы, таких, как количество эритроцитов, концентрация гемоглобина и скорость оседания эритроцитов, наблюдалось, как правило, в более поздние сроки после окончания ЭИТ (в среднем на 10-14 день).

Таким образом, представленные результаты показывают, что включение экстракорпоральной цитокиноотерапии в программу комплексного лечения хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями позволяет изменить неблагоприятное течение патологического процесса и в короткие сроки добиться заметного saniрующего, детоксикационного и иммунокорректирующего эффектов.

Эффективность экстракорпоральной иммунотерапии проиллюстрируем на отдельном клиническом примере.

Больной 3. (ИБ № 5850), 45 лет, поступил 17.12.93 г. в МКБ №12 г. Новосибирска с диагнозом: деструктивная абсцедирующая пневмония, пиопневмоторакс. Течение заболевания осложнилось прорывом эмпиемы плевры в брюшную полость с развитием РПП, сепсиса, ДВС синдрома, полиорганной недостаточности (токсический гепатит, токсический миокардит, токсическая почка). Выполненные лапаротомии/санации брюшной полости (№3) не принесли желаемого результата, после чего больному была наложена лапаростома. Этапные санации брюшной полости (№4), интенсивная терапия с использованием гемосорбции и плазмафереза малоэффективны. К моменту проведения ЭИТ состояние больного крайней степени тяжести, температура тела 39,5°C, кожные покровы бледные с сероватым оттенком, истощен, энцефалопатия, тоны сердца глу-

Таблица 5. ИЗМЕНЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭНДОТОКСИКОЗА У БОЛЬНЫХ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЭИТ

| Показатель | Доноры (n=20) | Больные | |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| | | До ЭИТ (n=121) | После ЭИТ (n=80) |
| Эритроциты x 10 ¹² /л | 4,52 ± 0,08 | 2,97 ± 0,03 | 3,2 ± 0,11 |
| Гемоглобин г/л | 139 ± 2,6 | 98 ± 2,2 | 105 ± 4,1 |
| Лимфоциты % | 26,9 ± 1,5 | 15,6 ± 1,0 | 22,8 ± 1,6** |
| СОЭ мм/час | 5 ± 0,6 | 41 ± 1,8 | 32 ± 4,3 |
| ЛИИ расч.ед. | 1,2 ± 0,4 | 6,3 ± 0,6 | 2,6 ± 0,2** |
| МСМ усл.ед. | 0,3 ± 0,01 | 0,78 ± 0,06 | 0,35 ± 0,02** |

Примечание: ** - $p < 0,01$, достоверность различий показателей до и после ЭИТ, t критерий Стьюдента для несвязанных выборок

хие, АД 85/50 мм.рт.ст., пульс 110 уд/мин слабого наполнения, в легких клинические и рентгенологические проявления двусторонней пневмонии, одышка (ЧДД 24/мин), печень и селезенка увеличены в размерах, олигурия. Бактериальный посев: из брюшной полости - *Ps. aerogenosa*, *E.coli*, *Proteus mirrabilis*; из крови - *E.coli*. В анализах крови: эритроциты 2,6 x 10¹²/л, гемоглобин 74 г/л, лейкоциты 38,1 x 10⁹/л (токсическая зернистость нейтрофилов +++), лимфоциты 0,76 x 10⁹/л, ЛИИ 16,0 расч.ед., СОЭ 55 мм/час, МСМ 1,05 усл.ед., общий белок 48 г/л, альбумины 32%, мочевины 10,1 ммоль/л. По данным иммунологического обследования снижены абсолютное и относительное количество CD3⁺Т-лимфоцитов (0,42 x 10⁹/л и 56% соответственно), изменен иммунорегуляторный индекс, регистрируется низкая пролиферативная активность лимфоцитов (ИВ_{ConA} 9,8) и продукция IL-2 в культуре *in vitro* (27 Ед/мл).

18.01.94 г. (на 30 сутки заболевания) больному начато проведение ЭИТ. Через 48 ч после окончания процедуры ЭИТ отмечается значительное улучшение в общем состоянии больного: температура тела снизилась до 37,8°C, сознание ясное, правильно ориентирован, гемодинамика стабилизируется. При очередной санации брюшной полости значительное уменьшение количества гнойного экссудата, появление грануляций по краям лапаротомной раны. Через 72 часа лапаротомная рана ушита. Через 96 часов после ЭИТ: температура тела 37,4°C, АД 120/70 мм.рт.ст., пульс 82 уд/мин, ЧДД 18/мин, клинически и рентгенологически разрешение пневмонии, диурез адекватный, больной принимает пищу, сидит в постели. На 4-5 сутки после ЭИТ лейкоцитоз снизился с 12,4 до 9,5 x 10⁹/л, и в то же время абсолютное количество лимфоцитов увеличилось с 0,86 до 3,7 x 10⁹/л. Уменьшились лабораторные проявления эндотоксикоза: ЛИИ с 7,0 до 1,3 расч.ед., СОЭ - с 50 до 30 мм/час, МСМ - с 0,71 до 0,35 усл.ед. По дан-

ным контрольного иммунологического обследования у больного увеличилось абсолютное и относительное количество CD3⁺T-лимфоцитов с $0,42 \times 10^9$ /л до $1,88 \times 10^9$ /л и с 56% до 66%, соответственно, нормализовался иммунорегуляторный индекс, возросла интенсивность пролиферативного ответа (ИВ_{ConA} 9,8 vs 25,2 до и после ЭИТ соответственно). В дальнейшем отмечено благоприятное клиническое течение заболевания. При неоднократных исследованиях крови - роста микрофлоры не выявлено. Через 2 недели после начала ЭИТ (02.02.94 г.) больной был выписан в удовлетворительном состоянии.

Сравнительная оценка результатов лечения хирургических больных в рамках традиционных, общепринятых схем (n=52) и комплексного лечения с использованием ЭИТ (n=121), представленных в таблице 6, показала, что использование разработанного протокола ЭИТ позволяет снизить летальность больных с гнойно-хирургической патологией с 21,1 до 8,2 % (p=0,017). Из данных таблицы видно также, что летальность снизилась не только в целом по группе обследованных больных, но и среди больных с эндотоксикозом тяжелой/крайне тяжелой степени выраженности, и среди больных с генерализованными осложнениями (РГП/сепсис) в 2,8 и 2,9 раза соответственно (p=0,009 и p=0,008).

Следует отметить, что группу умерших больных (10/121) составили пациенты исключительно с генерализованными формами хирургической инфекции. Из них 6 человек с острыми воспалительными заболеваниями органов брюшной полости, осложненными РГП (1) или РГП в сочетании с сепсисом (4); 3 человека с нагноительными заболеваниями мягких тканей, осложненных раневым сепсисом; и один больной с ангиогенным сепсисом. Ретроспективный анализ летальных исходов позволяет, на наш взгляд, выделить несколько причин, обусловивших неэффективность ЭИТ. Во-первых, у 4 больных на момент проведения ЭИТ не были окончательно решены проблемы хирургической санации очага инфекции в брюшной полости; во-вторых, в 4 случаях ЭИТ использовали в слишком поздние сроки забо-

левания (в качестве "терапии отчаяния"), когда полиорганная недостаточность имела необратимый характер; в-третьих, у 2 больных непосредственной причиной смерти являлись профузное кровотечение при панкреонекрозе и завышенный объем повторного оперативного вмешательства у больного с кишечными свищами.

Обсуждение

Проведенные клиничко-иммунологические исследования показывают, что включение в программу комплексного лечения хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями экстракорпоральной иммунотерапии с использованием аутологичных ИЛ-2-активированных клеток позволяет в короткие сроки добиться детоксикационного, иммунокорректирующего и санирующего эффектов, что сопровождается положительной клинической динамикой и снижением уровня летальности более чем в 2 раза.

Первые сообщения о перспективности использования ИЛ-2 в целях усиления противоинфекционного иммунитета относятся к 1989 г. [22], когда впервые была показана эффективность рекомбинантного ИЛ-2 в коррекции иммунных нарушений у экспериментальных животных с тяжелыми и генерализованными формами бактериальной инфекции. Разработку и внедрение в медицинскую практику метода экстракорпоральной иммунотерапии с использованием rIL-2 мы начали с 1993 г. [3, 4, 23, 24]. Настоящее исследование наиболее полно представляет и подытоживает результаты использования ЭИТ при лечении больных с гнойно-хирургической патологией. Главным итогом проведенной работы следует признать значительное, и вместе с тем статистически достоверное снижение уровня летальности больных с хирургической инфекцией как в целом по группе, так и среди пациентов с тяжелыми и генерализованными осложнениями (РГП, сепсис) или с особой тяжестью инфекции (эндотоксикоз тяжелой/крайне тяжелой степени выраженности).

Полученные нами данные можно сравнить с результатами клинической апробации ронколейкина

Таблица 6. ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕТАЛЬНОСТИ В ИССЛЕДОВАННЫХ ГРУППАХ БОЛЬНЫХ

| Группы больных ^{а)} | Уровень летальности % (количество больных) | | Достоверность различий |
|------------------------------|--|-------------------------------------|------------------------|
| | Традиционное лечение + ЭИТ (n=121) | Традиционное лечение без ЭИТ (n=52) | |
| В целом по группе | 8,2 % (10/121) | 21,1 % (11/52) | P = 0,017 |
| Группа СЭИ II/III ст. | 8,9 % (9/101) | 25,0 % (11/44) | P = 0,009 |
| Группа РГП/сепсис | 11,4 % (9/79) | 33,3 % (9/27) | P = 0,008 |

Примечание: а) оценивались показатели летальности больных с хирургической инфекцией в целом по группе, и отдельно в группе с тяжелой/крайне тяжелой степенью выраженности СЭИ, а также в группе больных с тяжелыми и генерализованными осложнениями (РГП, сепсис); достоверность различий посчитана методом χ^2 .

(лекарственной формы дрожжевого рекомбинантного IL-2 отечественного производства) в комплексном лечении хирургического сепсиса [1]. При проведении инфузионной терапии ронколейкином (в суммарной дозе 1-2 млн. МЕ) летальность больных составила 29,4 %, что, по данным авторов, оказалось на 33,9 % ниже, чем в контрольной группе. Аналогичные клинические испытания ронколейкина при лечении 54 больных с сепсис-синдромом показали, что после окончания цитокинотерапии у больных происходило ослабление проявлений интоксикации, 2-кратное увеличение лимфоцитов, CD3⁺T-клеток, CD4⁺T-хелперов, при этом общая летальность в исследуемой группе составила 20,4 % [10].

На Европейском конгрессе по интенсивной медицине (Франция, 1997 г.) был подведен итог многоцентровых рандомизированных исследований по лечению 4.000 больных сепсисом. Результаты анализа показали, что за последние 10 лет среднестатистические показатели летальности при сепсисе в различных странах Европы сохраняются на уровне 38%. Характерно, что включение в лечебную программу современных антибиотиков (например, имепинемов), широкое использование методов экстракорпоральной детоксикации организма (например, гемофильтрации) или моноклональных антител против TNF- α существенно не улучшили результатов лечения больных сепсисом. С этих позиций применение цитокинов с провоспалительной активностью (rIL-2, rIFN- γ , лейкинферон) в комплексном лечении гнойно-септических заболеваний представляется весьма перспективным, т.к. по нашим данным, а также данным других авторов [1, 10, 14, 5], позволяет добиться значительного снижения уровня летальности больных.

В настоящее время нами планируется проведение рандомизированных клинических испытаний, соответствующих требованиям доказательной медицины, по оценке клинической эффективности Ронколейкина в режиме экстракорпоральной иммунотерапии хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями. Можно надеяться, что полученные результаты позволят не только расширить арсенал методов и средств иммунотерапии, но и определить более четкие показания и противопоказания к ее применению.

Благодарности

Мы выражаем особую благодарность своим пациентам за их мужество, терпение и веру в нас.

Список литературы

1. Гринев М.В., Громов М.И., Цибин Ю.Н., и др. Интерлейкин-2 в комплексной детоксикационной терапии хирургического сепсиса // Анест. и реаним.- 1994.- № 6.- С. 25-28.

2. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета // Иммунология.- 1995.- № 3.- С. 30-44.

3. Козлов В.А., Останин А.А., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я., Пальцев А.В., Черных Е.Р. Экстракорпоральная иммунотерапия в коррекции состояния "иммунопарализиса" у больных с хирургической инфекцией // Int. J. on Immunorehabilitation .-1997.- № 6.- С. 135-138.

4. Останин А.А., Пальцев А.В., Шалганова И.Г. и др. Цитокины в лечении и профилактике инфекционных послеоперационных осложнений у пациентов с колоректальным раком // Вопросы онкологии.- 1999.- № 6.- С.

5. Пинегин Б.В., Андронова Т.М., Юдина Т.И. Иммунодиагностика и иммунотерапия хирургических инфекций // Int. J. on Immunorehabilitation.- 1998.- № 10.- С. 86-99.

6. Савельев В.С. Пути совершенствования хирургической помощи населению РСФСР // Сов. мед.- 1990.- № 10.- С. 3-10.

7. Фрейдлин И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети // Иммунология.- 1995.- № 3.- С. 44-48.

8. Чаленко В.В., Кутушев Ф.Х. Эндогенная интоксикация в хирургии // Вестн. хирургии.- 1990.- № 4.- С. 3-8.

9. Черных Е.Р., Останин А.А., Леплина О.Ю. и др. Способ адоптивной иммунотерапии // АС № 94041302, 1994.

10. Шляпников С.А., Бубнова Н.А., Ерюхин И.А. Принцип цитокиновой терапии сепсис-синдрома // Вестн. хирургии.- 1997.- № 2.- С. 51-54.

11. Bergmann L., Fenchel K., Weidmann E., et al. Daily alternating administration of high-dose interferon-alpha-2B and interleukin-2 bolus infusion in metastatic renal-cell cancer // Cancer.- 1993.- Vo. 72.- P. 1733-1742.

12. Bone R.C. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS // Crit. Care Med.- 1996.- Vol. 24, № 7.- P. 1125-1128.

13. Bone R.C., Grodzin C.J., Balk R.A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process // Chest.- 1997.- Vol. 112, № 1.- P. 235-242.

14. Docke W-D., Randow F., Syrbe U., et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- γ treatment // Nature Medicine.- 1997.- Vol. 3, № 6.- P. 678-681.

15. Gambacortri-Passerini C., Rivoltini L., Radrizzani M., et al. Differences between in vivo and in vitro activation of cancer patient lymphocytes by recombinant interleukin-2: possible role for lymphokine-activated killer cell infusion in the in vivo-induced activation // Cancer Res.- 1989.- Vol. 49, № 9.- P. 5230-5234.

16. Giroir B.P. Mediators of septic shock: new approaches for interruption the endogenous

inflammatory cascade // Crit. Care Med.- 1993.- Vol. 21, № 5.- P. 780-789.

17. Glauser M.P., Heumann D., Baumgartner J.D., Cohen J. Pathogenesis and potential strategies for prevention and treatment of septic shock // Clin. Infect. Dis.- 1994.- Vol. 18, № 2.- P. 205-216.

18. Herdegen J.J., Casey L.C. The role of tumor necrosis factor in infections: pathophysiology and clinical implications // Highlights from: Infections in Medicine.-1995.-Vol. 10, № 4.- P. 3-11.

19. Heumann D., Glauser M.P. Pathogenesis of sepsis // Scientific American SCIENCE & MEDICINE.- 1994.- Vol. 1, № 5.- P. 28-37.

20. Lotze M.T., Matory Y.L., Ettinghansen S.E., et al. In vivo administration of human purified interleukin-2 (IL-2). II. Half-life, immunologic effects and expansion of peripheral lymphoid cells in vivo with rIL-2 // J. Immunol.- 1985.- Vol. 135.- P. 3865-3875.

21. Munoz C., Carlet J., Fitting C., et al. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis // J. Clin. Invest.- 1991.- Vol. 88, № 8.- P. 1747-1754.

22. Nitsche D. Vermendung von interleukin-2 bei ausgebehten bakteriellen infection // Patent № 3910011.1, Germany, 1989.

23. Ostanin A.A., Chernykh H.R., Leplina O.Yu., et al. IL-2-activated killer cells and native cytokines in the treatment of patients with advanced cancer // Russian J. Immunology.- 1997.- Vol. 2, № 3-4.- P. 167-176.

24. Ostanin A.A., Nikonov S.D., Chernykh H.R. Cytokine-based immunotherapy of severe and

generalized surgical infections // Crit. Care International.- 1996.- № 11-12.- P. 13-16.

25. Palmer P.A., Vinke J., Evers P., et al. Continuous infusion of recombinant interleukin-2 with or without autologous lymphokine-activated killer cells for the treatment of advanced renal cell carcinoma // Eur. J. Cancer.- 1992.- Vol. 28A.- P. 1038-1044.

26. Parrillo J.E., Parker M.M., Natanson C., et al. Septic shock in humans: advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy // Ann. Int. Med.- 1990.- Vol. 113, № 1.- P. 227-232.

27. Poeze M., Ramsay G. Anti endotoxin immunotherapy. Does it work? // In: 8th Eur. Congr. of Intensive Care Med.I. Main Lectures. Ed. C.Roussos, Greece, 1995, P. 441-447.

28. Volk H-D., Docke W-D., Randow F., et al. Diagnostic value of an immune monitoring program for the clinical management of immunosuppressed patients with septic complications // Clin. Trasplant.- 1989.- Vol. 3.- P. 246-252.

29. Volk H-D., Docke W-D., Reinke P., Randow F., Kox W.J. Pathomechanism of monocytic dysfunction: the concept of immunoparalysis // In "Interferon-gamma in infections and immunoparalysis", Satellite Symposium of 8-th European Congress of Intensive Care Medicine, Greece, 1995.

30. Zanetti G., Heumann D., Gerain J., et al. Cytokine production after intravenous or peritoneal gram-negative bacterial challenge in mice. Comparative protective efficacy of antibodies to tumor necrosis factor- β and to lipopolysaccharide // J. Immunol.- 1992.- Vol. 148, № 6.- P. 1890-1897.

поступила в редакцию 21.01.2000

принята к печати 12.02.2000