

УДК 616.381-002:615.37-052

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ РОНКОЛЕЙКИНА У ДЕТЕЙ С ПЕРИТОНИТОМ

Тусупкалиев А.Б., Баубеков Ж.Т.

*Западно-Казахстанский государственный медицинский университет имени Марата Оспанова,
Актобе, e-mail: t_danetai@mail.ru*

В основу работы положен анализ наблюдений за 70 пациентами с аппендикулярным перитонитом, находившимися на лечении в клинике детской хирургии ЗКГМУ имени Марата Оспанова в возрасте от 2 до 14 лет. В зависимости от распространенности диффузный перитонит выявлен у 32 детей, и у 48 пациентов диагностирован разлитой перитонит. Все дети были оперированы лапароскопическим методом. Основную группу (группа № 1) составили 38 больных, которым после окончательной санации брюшной полости в забрюшинное пространство правой подвздошной области одновременно вводился препарат Ронколейкин (до 7 лет – 0,25 мг, старше – 0,5 мг), и в послеоперационном периоде одним из компонентов комплексной терапии являлась регионарная лимфотропная антибактериальная терапия (гентамицин 4–7 мг/кг). В качестве группы сравнения (группа № 2) наблюдалось 42 ребенка, которым в послеоперационном периоде применялась общепринятая антибактериальная терапия. Проведенные исследования показали, что после окончательной санации брюшной полости одновременное введение в забрюшинное пространство правой подвздошной области Ронколейкина способствует нормализации интерлейкинового статуса к 14 суткам после операции. Примененная методика комплексной оценки иммунного статуса позволила выделить в качестве прогностически значимых показателей: ИРИ, уровень CD4+ и CD8+, уровень секреции ИЛ-1 и ИЛ-2, а также экспрессии ИЛ-1 p и ИЛ-2p.

Ключевые слова: Ронколейкин, перитонит, лапароскопия

IMMUNOLOGIC CHARACTERISTICS OF EFFICIENCY OF LOCAL USE OF RONKOLEUKIN IN CHILDREN WITH PERITONITIS

Tusupkaliev A.B., Baubekov Z.T.

West Kazakhstan Marat Ospanov state medical university, Aktobe, e-mail: t_danetai@mail.ru

The analysis of investigations of 70 patients at the age of 2–14 years with appendicular peritonitis having been treated at the clinic of children's surgery of the West Kazakhstan Marat Ospanov state medical university was taken as for the basis of the work. Due to the prevalence diffuse peritonitis was revealed in 32 children and general peritonitis in 48 patients. All the children were operated by laparoscopic method. The basic group (group № 1) consisted of 38 patients whom after final sanation of the abdominal cavity were introduced at once Rencoleukin preparation into the retroperitoneal region of the right iliac area (before 7 years – 0,25 mgr, older – 0,5 mgr) and during postoperative period regional lymph tropic antibacterial therapy (Gentamicini – 4–7 mgr/kg) was one of the constituents of complex therapy. In the group of comparison (group № 2) 42 children were observed who were receiving general antibacterial therapy. The performed investigations showed that after final sanation of the abdominal cavity simultaneous introduction of Ronkoleukin into retroperitoneal space of the right iliac area facilitated to normalization of interleukin status by the 14th day after the operation. The applied methods of a complex estimation of immune status allowed to distinguish IRI, levels CD4+ and CD8+, level of secretion IL-1 and IL-2 and also expressions IL-1p and IL-2p as forecasting significant indices.

Keywords: Rencoleukin, peritonitis, laparoscopic

Актуальность. Перитонит характеризуется как хирургический стресс с многофакторностью воздействия, когда к эндогенным стрессорным факторам (инфекция, воспаление) присоединяются экзогенные факторы (наркоз, операционная травма) с выбросом в кровь стресс-гормонов, оказывающих мощное депрессивное воздействие на иммунитет [1, 2, 3]. Данное обстоятельство способствует формированию вторичного иммунодефицита, усугубляющего течение заболевания. В связи с этим комплекс проводимой послеоперационной терапии требует включения иммунокорректирующих препаратов. Это, в свою очередь, требует применения адекватных иммунологических тестов, которые способны в наибольшей

степени способствовать корректному прогнозу эффективности проводимого лечения и исхода заболевания [4, 5].

Цель исследования: иммунологическая оценка местного применения Ронколейкина при перитонитах различного генеза у детей.

Материалы и методы исследования

В основу работы положен анализ наблюдений за 70 пациентами с аппендикулярным перитонитом, находившимися на лечении в клинике детской хирургии ЗКГМУ имени Марата Оспанова в возрасте от 2 до 14 лет. В зависимости от распространенности диффузный перитонит выявлен у 32 детей, и у 48 пациентов диагностирован разлитой перитонит. Все дети были оперированы лапароскопическим методом.

Основную группу (группа № 1) составили 38 больных, которым после окончательной санации брюшной полости в забрюшинное пространство

правой подвздошной области одновременно вводился препарат Ронколейкин (до 7 лет – 0,25 мг, старше – 0,5 мг), и в послеоперационном периоде одним из компонентов комплексной терапии являлась регионарная лимфотропная антибактериальная терапия (гентамицин 4–7 мг/кг). В качестве группы сравнения (группа № 2) наблюдалось 42 ребенка, которым в послеоперационном периоде применялась общепринятая антибактериальная терапия.

Всем больным на 1-е, 3-е, 7-е и 14-е сутки проводили исследования по оценке иммунного статуса, которые включали определение количества CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, с помощью моноклональных антител производства ООО «Сорбет» (Россия); оценку функциональной активности Т-лимфоцитов по проценту потребления глюкозы (ППГ) в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ); расчет иммунорегуляторного индекса (ИРИ = CD4+/CD8+), определение уровней сывороточных иммуноглобулинов основных классов А, М, G, исследование фагоцитарной активности нейтрофилов с использованием тест-культуры стафилококка и определением фагоцитарного индекса (ФИ%) нейтрофилов, способных к фагоцитозу, и фагоцитарного числа (ФЧ) – числа микробов, поглощенных одним нейтрофилом [6].

Определение продукции ИЛ-1, ИЛ-2 и их рецепции проводили с использованием в качестве тест-системы лейкоцитарной взвеси периферической крови (ПК) человека, лишенной моноцитов. Сущность метода заключалась в:

- 1) разделении клеток ПК на клетки-продуценты ИЛ-1 и ИЛ-2 с помощью прилипания к стеклу;
- 2) получении супернатантов, содержащих ИЛ-1 и ИЛ-2;
- 3) оценке влияния супернатантов на РБТЛ с ФГА мононуклеарных клеток периферической крови, лишенных моноцитов [7].

Оценка секреции ИЛ-1 и ИЛ-2 проводилась в РБТЛ с ФГА на клетках донорской крови, обработанных супернатантами, содержащими ИЛ-1 и ИЛ-2, выделенными из мононуклеарных клеток больных. Оценка ИЛ-1р и ИЛ-2р осуществлялась аналогичным образом, только в данном случае в РБТЛ использовали клетки больного, обработанные донорскими супернатантами. Результаты оценивали по уровню ППП. В качестве контроля иммунологических показателей использованы данные, полученные при иммунологическом исследовании 536 здоровых лиц соответствующего возраста. Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики с использованием корреляционного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Иммунный статус большинства больных с перитонитом из обеих групп характеризовался снижением ИРИ: до $2,0 \pm 0,1$ (разлитой перитонит) и $2,8 \pm 0,3$ (диффузный перитонит). Данное обстоятельство было обусловлено снижением процента содержания CD4+ до $32,4 \pm 5,8\%$ (разлитой перитонит) и до $39,9 \pm 4,6\%$ (диффузный перитонит) при некотором увеличении популяции CD8+ – $26,5 \pm 0,9\%$ (разлитой перитонит) и $24,4 \pm 1,1\%$ (диффузный перитонит). Кроме того, выявлено сниже-

ние уровня всей популяции Т-лимфоцитов (CD3+) до $49,1 \pm 5,0\%$ (разлитой перитонит) и $56,3 \pm 2,9\%$ (диффузный перитонит). При этом отмечается снижение ППП в РБТЛ до $12,6 \pm 1,4\%$ (разлитой перитонит) и $15,0 \pm 2,0\%$ (диффузный перитонит) в основном за счет CD4+. Также отмечено снижение функциональной активности В-лимфоцитов (CD20+), что проявлялось снижением уровня сывороточных иммуноглобулинов JgA ($1,1 \pm 0,1$ г/л и $1,4 \pm 0,2$ г/л соответственно) и JgG ($8,2 \pm 0,9$ г/л и $9,8 \pm 0,87$ г/л) и фагоцитарной активности нейтрофилов: ФИ- $44,1 \pm 3,7\%$ и $50,6 \pm 3,3\%$; ФЧ- $3,2 \pm 0,11$ и $4,7 \pm 0,09$ соответственно.

Нарушение активности Т-, В-звеньев иммунитета и процесса фагоцитоза было выражено в большей степени у пациентов с разлитым перитонитом, что обусловлено более высоким уровнем интоксикации и тяжестью заболевания.

При исследовании интерлейкинового статуса у детей с диффузным перитонитом была выявлена высокая секреция противовоспалительного ИЛ-1 ($1,87 \pm 0,02$) и иммунорегуляторного ИЛ-2 ($1,58 \pm 0,02$) с экспрессией рецепторов ИЛ-1р и ИЛ-2р ($1,28 \pm 0,15$ и $1,35 \pm 0,1$), в то время как у пациентов с разлитым перитонитом формировался интерлейкинзависимый иммунодефицит со снижением секреции ИЛ-1 и ИЛ-2 ($1,2 \pm 0,08$ и $1,0 \pm 0,08$) и экспрессии ИЛ-1р и ИЛ-2р ($0,9 \pm 0,07$ и $0,8 \pm 0,06$). В группе здоровых детей данные показатели составляли: ИЛ-1 = $1,7 \pm 0,02$; ИЛ-2 = $1,4 \pm 0,12$; ИЛ-1р = $1,25 \pm 0,1$ и ИЛ-2р = $1,1 \pm 0,09$.

Анализ динамики изученных параметров иммунитета в послеоперационном периоде показал, что на 1-е и 3-е сутки после операции не выявилось каких-либо тенденций или достоверных отличий по всем изученным показателям в обеих группах больных. На 7-е сутки, после проведения иммуномодулирующей терапии, в группе сравнения отмечено незначительное повышение содержания CD4+ и CD8+, но без нормализации их баланса. Уровни иммуноглобулинов и фагоцитарная активность нейтрофилов повышались незначительно. Продукция ИЛ-1, ИЛ-2 и экспрессия ИЛ-1р, ИЛ-2р практически не изменялись, в то время как в первой группе детей наблюдалось недостоверное увеличение содержания CD4+ и CD8+ с тенденцией нормализации их баланса. Отмечалось небольшое повышение уровня JgG и усиление фагоцитарной активности нейтрофилов. Продукция

ИЛ-1, ИЛ-2 и экспрессия ИЛ-1 ρ , ИЛ-2 ρ повышались без достоверных отличий от исходных данных.

Изученные параметры иммунитета в исследуемых группах детей на 14-е сутки показали, что ИРИ в основной группе соответствовал показателям у здоровых лиц, в то время как в группе сравнения он был достоверно ниже (соответственно $2,3 \pm 0,2$ и $3,5 \pm 0,3$).

Кроме того, в основной группе больных констатирована нормализация субпопуляций CD4 $^+$ и CD8 $^+$, увеличение уровней иммуноглобулинов всех классов, усиление фагоцитарной активности нейтрофилов до нормальных показателей. В то же время в группе сравнения число CD4 $^+$ приближается к норме при сохраняющемся высоком уровне CD8 $^+$. В данной группе также отмечается увеличение уровней иммуноглобулинов и фагоцитарной активности нейтрофилов.

В отношении цитокинового статуса у больных с перитонитом установлено модулирующее действие одномоментного введения Ронколейкина с последующей регионарной лимфотропной антибактериальной терапией, т.е. снижение до уровня показателей здоровых детей секреции ИЛ-1, ИЛ-2 и экспрессии их рецепторов.

В группе больных, которым не проводилось введение Ронколейкина, установлено только недостоверное снижение секреции ИЛ-1 и особенно ИЛ-2, а также экспрессии ИЛ-1 ρ , ИЛ-2 ρ .

Выводы

Проведенные исследования показали, что после окончательной санации брюшной полости одномоментное введение в забрюшинное пространство правой подвздошной области Ронколейкина способствует нормализации интерлейкинового статуса к 14 суткам после операции. Примененная методи-

ка комплексной оценки иммунного статуса позволила выделить в качестве прогностически значимых показателей: ИРИ, уровень CD4 $^+$ и CD8 $^+$, уровень секреции ИЛ-1 и ИЛ-2, а также экспрессии ИЛ-1 ρ и ИЛ-2 ρ .

Список литературы

1. Бондарь Б.Н., Пастернак И.И., Безруков Л.А. и др.// Иммунные нарушения и их коррекция тимостимулином при распространенных формах перитонита у детей // Детская хирургия. – 2000. – № 5. – С. 14–16.
2. Брискин Б.С., Савченко З.И. // Иммунологические аспекты прогнозирования эффективности антибиотикотерапии у больных с перитонитом // Вестник хирургии. – 2000. – № 1. – С. 21–24.
3. Виталиев М.Х.// Иммунокоррекция в комплексном лечении больных абдоминальным сепсисом // Астана медициналык журналы. – 2006. – № 4. – С. 130–133.
4. Засорин Б.В.// Иммунная система в условиях экологического неблагополучия // Актуальные проблемы аллергологии и иммунологии. Алматы. – 2005. – С. 208–210.
5. Засорин Б.В.// Способ оценки токсического действия химических веществ. А.С. № 5614 от 24.02.1994 РК.
6. Рустемова К.Р.// Оптимизация алгоритмов лечения больных разлитым перитонитом // Медицина. – 2006. – № 11. – С. 29–32.
7. Тусупкалиев А.Б.// Перитониты у детей. – Актобе, 2007. – 144 с.
8. Cardinale F., Chinellato I., Caimmi S., Peroni D.G., Franceschini F., Miraglia Del Giudice M., Bernardini R. Perioperative period: immunological modifications. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011 Jul-Sep;24(3 Suppl):S3-12. Review.
9. Kinoshita M., Miyazaki H., Ono S., Seki S.J. Immuno-enhancing therapy with interleukin-18 against bacterial infection in immunocompromised hosts after severe surgical stress. *Leukoc Biol.* 2013 May;93(5):689-98. doi: 10.1189/jlb.1012502. Epub 2013 Feb 13. Review.
10. Osuchowski M.F., Craciun F., Weixelbaumer K.M., Duffy E.R., Remick D.G. Sepsis chronically in MARS: systemic cytokine responses are always mixed regardless of the outcome, magnitude, or phase of sepsis. *J Immunol.* 2012 Nov 1;189(9):4648-56. doi: 10.4049/jimmunol.1201806. Epub 2012 Sep 24.
11. Prakash P.S., Caldwell C.C., Lentsch A.B., Pritts T.A., Robinson B.R. Human microparticles generated during sepsis in patients with critical illness are neutrophil-derived and modulate the immune response. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 Aug;73(2):401-6; discussion 406-7. doi: 10.1097/TA.0b013e31825a776d.
12. Xia X.J., Liu B.C., Su J.S., Pei H., Chen H., Li L., Liu Y.F. Preoperative CD4 count or CD4/CD8 ratio as a useful indicator for postoperative sepsis in HIV-infected patients undergoing abdominal operations. *J Surg Res.* 2012 May 1;174(1):e25-30. doi: 10.1016/j.jss.2011.10.006. Epub 2011 Oct 25.