

АО «Медицинский университет Астана»

УДК:615.03-005.6:617-089-002

На правах рукописи

СУЛТАНГЕРЕЕВ ЕРЛАН БАХЫТОВИЧ

**Эритроцитарные фармакоциты с ронколейкином в комплексном лечении
больных хирургическим сепсисом**

6D110100 - Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научный руководитель
доктор медицинских наук,
профессор
Е.А.Тайгулов

Зарубежный научный консультант
MD, PhD, professor
Arturas Razbadauskas (Lithuania)

Республика Казахстан
Астана, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
1 ЦИТОКИНОТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИЛТЕРЛЕЙКИНОМ – 2 (rIL-2) В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО СЕПСИСА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ОПТИМИЗАЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	10
1.1 Иммунопатогенез хирургического сепсиса.....	10
1.1.1 Системная депрессия иммунной системы.....	10
1.1.2 Иммунодепрессия в патогенезе полиорганной недостаточности.....	15
1.1.3 Иммунорегуляторные свойства IL-2.....	21
1.2 Ронколейкин® в комплексном лечении хирургического сепсиса.....	25
1.3 Эритроцитарные фармакоциты в лечении острых хирургических заболеваний с наличием гнойно-септических осложнений.....	30
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1 Общая характеристика больных.....	35
2.2 Оценка тяжести сепсиса.....	39
2.3 Иммунологические методы исследования.....	42
2.4 Статистическая обработка полученных данных.....	43
2.5 Способ конструирования эритроцитарных фармакоцитов с ронколейкином и их применение в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом различной этиологии.....	43
3 КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ФАРМАКОЦИТОВ С РОНКОЛЕЙКИНОМ® (rIL-2) В КОМПЛЕКСНОЙ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО (РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ).....	45
3.1 Традиционное внутривенное введение Ронколейкина® в комплексном лечении хирургического сепсиса.....	45
3.1.1 Клинико-лабораторная и иммунокорригирующая эффективность Ронколейкина® при традиционном внутривенном его применении (контрольная группа).....	46
3.1.2 Клинико-лабораторная и иммунокорригирующая эффективность Ронколейкина® при использовании его в составе эритроцитарных фармакоцитов в комплексной терапии хирургического сепсиса (основная группа).....	54
3.1.3 Сравнительная оценка клинико-иммунологической эффективности Ронколейкина® в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом при традиционном внутривенном введении препарата или использовании его составе эритроцитарных фармакоцитов.....	62

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	74
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	85
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	86

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001 (Межгосударственный стандарт) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98 (Межгосударственный стандарт) Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ГОСТ 7.1-84 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования. Конституция Республики Казахстан: принята 30 августа 1995 года. Кодекс Республики Казахстан. О здоровье народа и системы здравоохранения: принят 18 сентября 2009 года, №193-IV (с изменениями на 19 января 2011 года). Закон Республики Казахстан. О системе здравоохранения: принят 4 июня 2003 года.

Постановление Правительства Республики Казахстан. Об утверждении Концепции реформирования медицинского и фармацевтического образования Республики Казахстан: утв. 24 апреля 2006 года, №317.

Закон Республики Казахстан. Об охране здоровья граждан: принят 7 июля 2006 года.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

Абс.	- абсолютный (абсолютное число);
АЛТ	- аланинаминотрансфераза;
АСТ	- аспаратаминотрансфераза;
ЕД	- единица (единица измерения);
ИД	- иммунодефицит;
ИЛ-2	- интерлейкин - 2;
ОДП	- острый деструктивный панкреатит;
НТ	- направленный транспорт;
НСТ- тест	- тест восстановления нитросинего тетразолия;
ПОН	- полиорганная недостаточность;
РХПГ	- ретроградная холангиопанкреатография;
СВР	- системно-воспалительная реакция;
СОЭ	- скорость оседания эритроцитов;
УЗИ	- ультразвуковое исследование;
ХОБЛ	- хроническая обструктивная болезнь легких;
ХПН	- хроническая почечная недостаточность;
ИБС	- ишемическая болезнь сердца;
ЭФ	- эритроцитарные фармакоциты;
CD 3+	- Т-лимфоциты;
CD 4+	- Т-хелперы;
CD 8+	- Т-супрессоры;
CD 20+	- В-лимфоциты;
Ig A	- иммуноглобулин А;
Ig M	- иммуноглобулин М;
Ig G	- иммуноглобулин G.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Несмотря на достижения современной медицины, лечение сепсиса до сих пор остается наиболее актуальной проблемой хирургической инфекции. В большинстве российских и отечественных литературных источниках смертность больных хирургическим сепсисом колеблется от 15,4% до 50,0% [1-3] и практически никогда не бывает ниже 35% [2,с. 8-15]. При этом сохраняется тенденция неуклонного роста количества больных хирургическим сепсисом различной этиологии [4-6].

Тяжелый сепсис и септический шок, несмотря на использование мощных антибактериальных и химиотерапевтических препаратов, высокотехнологичных эффективных методов детоксикационной терапии, остаются самыми частыми причинами летальных исходов больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [2,с. 16-25].

Главным компонентом иммунной недостаточности при сепсисе следует считать общую иммунодепрессию, а не иммунные нарушения активационного типа [2,с. 16-25].

Ронколейкин® уже более трех десятилетий успешно применяется в России и странах СНГ при лечении хирургических гнойно-септических заболеваний [2,с. 26-35;7-19]. Высокая эффективность препарата доказана критериями исхода, его клиническим, детоксикационным и корригирующим действиями. Сформулировано представление о патогенетической иммуноориентированной терапии данным цитокиновым препаратом [20,21].

Однако существует ряд проблем, связанных с практическим применением рекомбинантных белков и пептидов. Это недостаточная стабильность в системах *in vitro* и *in vivo*; неустойчивость к действию протеаз; короткий период полураспада/полувыведения при введении в организм; иммуногенность и антигенность, характерная даже для природных белков человека; наличие побочных эффектов при длительном клиническом применении [22].

Как правило, в комплексной терапии хирургического сепсиса Ронколейкин® применяется в относительно больших разовых/суточных дозах – от 500 тыс. до 1,5 млн. МЕ, а в тяжелых случаях при выраженном иммунодефиците – 2 млн. МЕ [2,с. 26-35;11,с. 10-20;23-25]. С учетом того, что цитокины являются короткоживущими продуктами короткодистантного действия, для создания должной специфической их концентрации в крови и тканях и применяются такие дозы рекомбинантного интерлейкина 2 (rIL-2), а внутривенное введение растягивается до 6-8 часов. Цитокины дают желаемый эффект только при высокой локальной их концентрации [26].

Но большие дозы цитокинов способны нарушить всю цитокиновую регуляцию организма, приводя к тяжелым осложнениям в виде усиления цитокиновой дезрегуляции и цитокинового шока [27]. Излишняя стимуляция иммунной системы чревата перенапряжением, истощением резервов и в конечном итоге срывом ее работы [23,с. 8-20]. В этом плане, при лечении

сепсиса наиболее приемлемым считается применение цитокиновых препаратов в малых дозах короткими циклами [23,с. 8-20;28,29].

Кроме того, иммуномодулирующая активность Ронколейкин® должна бы существенно увеличиться при селективном накоплении специфических концентраций в органах иммунной системы при одновременном кумулятивном эффекте препарата. В этих случаях возможно использование малых доз рекомбинантного цитокина ИЛ-2.

Желательно также, чтобы новые медикаментозные средства, наряду с иммунокорректирующими свойствами, одновременно обладали другими позитивными клиническими эффектами, в частности, способностью купировать органно-системную недостаточность – органопротекторными.

Учитывая многокомпонентность терапевтического действия Ронколейкина® (иммунокорректирующее, детоксикационное, стимуляция регенерации и репаративных процессов) допускается возможность исследования оптимизации использования данного цитокинового препарата с целью повышения его иммуномодулирующего и органопротекторного эффектов в комплексном лечении тяжелого сепсиса.

Цель исследования Оптимизация иммунотерапии Ронколейкином® в комплексном лечении хирургического сепсиса посредством применения его в составе аутологичных эритроцитарных оболочек – «эритроцитарных фармакоцитов».

Объекты исследования пациенты с установленным диагнозом сепсис, находившиеся на стационарном лечении в хирургическом отделении ГКП на ПХВ «Городской больницы №1» акимата г.Астана и в хирургическом отделении ГКП на ПХВ «Больницы скорой медицинской помощи» г.Актобе.

Предмет исследования оптимизация комплексного лечения хирургического сепсиса.

Задачи исследования

1. Сравнить динамику основных симптомов системного воспалительного ответа (SIRS) у больных хирургическим сепсисом при традиционной цитокинотерапии Ронколейкином® и при введении его в составе аутологичных эритроцитарных оболочек.

2. Сопоставить иммуномодулирующий эффект rIL-2 в комплексной интенсивной терапии хирургического сепсиса при различных способах его применения – обычном внутривенном введении или в составе эритроцитарных фармакоцитов в минимально возможной дозе, указанной в инструкции.

3. Провести сравнительный анализ динамики полиорганной недостаточности (включая печеночную недостаточность) у больных тяжелым хирургическим сепсисом при дополнении комплексной интенсивной терапии цитокинотерапией Ронколейкином® обычным методом или включенным в состав аутологичных эритроцитарных оболочек.

4. Оценить возможные опосредованные детоксикационные свойства Ронколейкина® при различных способах его применения у больных хирургическим сепсисом.

5. Изучить возможности rIL-2 купировать прогрессирование хирургического сепсиса при разных формах применения препарата.

6. Обосновать целесообразность использования Ронколейкина® в минимально возможных дозах, указанных в инструкции, в составе эритроцитарных фармакоцитов при ежедневном внутривенном введении в течение 9-10 дней.

Научная новизна результатов исследования. Большинство полученных научных фактов являются новыми или содержат элементы новизны. Это касается достоверных, с позиций доказательной медицины, следующих научных фактов о высокой клинико-иммунологической эффективности рекомбинантного IL-2, вводимого в составе аутологичных эритроцитарных оболочек – «эритроцитарных фармакоцитах» в комплексном лечении хирургического сепсиса:

-данных о способности эритроцитарных фармакоцитов купировать основные симптомы системного воспалительного ответа (SIRS) и распространенность инфекционного процесса у больных с развитием хирургического сепсиса;

-достоверного усиления детоксикационного и гепатопротекторного действия, а также купирования воспалительного процесса у больных панкреатогенным сепсисом;

-достоверной нормализации основных иммунологических показателей венозной крови больных хирургическим сепсисом после цикла иммунотерапии в минимальных дозах в составе аутологичных фармакоцитов.

Практическая значимость. Доказанная высокая клинико-лабораторная и иммунологическая эффективность малых доз Ронколейкина®, включенного в состав эритроцитарных фармакоцитов, по сравнению с обычным внутривенным его введением при лечении хирургического сепсиса – представляют основную научную значимость настоящего исследования.

Практическая значимость работы заключается в создании нового способа дозированной иммунотерапии Ронколейкином®, позволяющего добиться специфических доз с кумулятивным действием в органах иммунной системы и в печени, при проведении комплексной, интенсивной терапии больных развитием хирургического сепсиса.

Основные положения выносимые на защиту

1. Клинико-лабораторная и иммуномодулирующая эффективность Ронколейкина® в комплексной интенсивной терапии хирургического сепсиса существенно возрастает при использовании препарата в минимально возможной дозе, указанной в инструкции, в составе аутологичных эритроцитарных фармакоцитов в режиме дозированной иммунотерапии.

2. Эритроцитарные фармакоциты с Ронколейкином® в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом позволяют купировать системный воспалительный ответ, статистически значимо усиливают опосредованную детоксикационную функцию организма, снижают острую органно-системную недостаточность и распространенность инфекционного процесса.

3. Рекомбинантный ПЛ-2, включенный в аутологичные эритроцитарные оболочки, статистически значимо по сравнению с обычным традиционным его использованием нормализует основные иммунологические показатели, т.е. обладает более выраженными иммуномодулирующими свойствами.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 8 печатных работ, в том числе 1 статья в научном журнале «Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences», March-April 2016. - №. 7(2) – P 2241, входящем в международную информационную базу данных Scopus (Elsevier); 3 статьи в изданиях, включенных в перечень комитета МОН РК; 4 публикаций в сборниках Международных конференций ближнего и дальнего зарубежья.

Публикации

По материалам работы опубликовано 3 печатные работы в журналах, рекомендованных комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК для размещения материалов диссертационных исследований.

Апробация диссертации

Материалы диссертации доложены на международном научно-практическом VI конгрессе хирургов Казахстана 20-24 апреля 2015г. №1 (42) 2015 специальный выпуск Вестник хирургии Казахстана в материалах тезисов: "Результаты включения препарата Ронколейкин в аутологичные эритроцитарные тени у больных хирургическим сепсисом", на международной научно-практической конференции «Молодых ученых и студентов» АО «Медицинский университет Астана» 14-15 апреля 2016 года: «Клинико-иммунологическая эффективность Ронколейкина в комплексном лечении осложненного деструктивного панкреатита», на 58-й международной научно-практической студенческой конференции «Студенческая наука и здоровье» «Государственный медицинский университет г. Семей», 20-21 апреля 2016 года «иммуномодулирующий эффект ронколейкина в отношении гуморального звена иммунитета при деструктивном панкреатите», «Влияние ронколейкина на клеточное звено иммунитета у больных острым деструктивным панкреатитом». Апробация диссертационной работы на кафедре хирургии интернатуры АО «Медицинский университет Астана», на базе «Городской больницы №1» 18.04.2016 года.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 103 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 28 таблиц и 21 рисунок. Список литературы включает 253 источника, из которых 85 зарубежных, 168 отечественных.

1 ЦИТОКИНОТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИЛТЕРЛЕЙКИНОМ – 2 (rIL-2) В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО СЕПСИСА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ОПТИМИЗАЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Иммунопатогенез хирургического сепсиса

При сепсисе происходит дисрегуляция системной воспалительной реакции, что позволило образно называть ее как "злокачественное внутрисосудистое воспаление" или "медиаторный хаос". Эта реакция может стать автономной, неконтролируемой и независимой от действия инициирующего фактора [11,с. 10-20;40].

Основные звенья иммунопатогенеза сепсиса в настоящее время установлены и приводятся во многих специальных литературных источниках [11,с.10-20;41-49]. Они следующие:

- прорыв защитных барьеров иммунитета;
- антигенемия и эндотоксикоз;
- дисбаланс цитокиновой регуляции при реализации генерализованной формы воспаления;
- неспецифическое иммуносупрессорное воздействие на иммунную систему активационных гормонов стресса и других супрессорных факторов (неспецифическая иммунодепрессия);
- анергия иммунокомпетентных клеток (ИКК) и другие варианты специфической иммунодепрессии [17,с. 3-8].

1.1.1 Системная депрессия иммунной системы

В последние десятилетия появились новые данные, значительно расширяющие сведения о важности роли иммунной системы в патогенезе сепсиса. Нарушения иммунной системы и эндогенная интоксикация при сепсисе определяют тяжесть и высокую летальность, а необходимость иммунокоррекции у данных больных не вызывает сомнений [2,с. 16-25;17,с. 3-8;50].

Главным условием развития сепсиса считается – несоответствие между качеством противоинфекционным иммунитетом и интенсивностью инфекционной нагрузки.

Дисбаланс цитокиновой регуляции приводит к регуляторной дезорганизации иммунной системы, результатом чего может быть генерализация воспалительного процесса, развитие ранней полиорганной недостаточности и септический шок.

В.К. Козлов в иммунопатогенезе сепсиса различает следующие варианты дисбаланса [2,с. 16-25]:

- изменение соотношения CD4+- и CD8+-лимфоцитов из-за избирательного воздействия факторов вирулентности микроорганизмов на определенную субпопуляцию лимфоцитов (уменьшение количества CD4+-лимфоцитов либо увеличение CD8+-клеток);

-нарушение нормального соотношения эффекторных клеток и клеток, функционально проявляющих себя как супрессорные в результате сбоя процесса дифференцировки клеток-эффекторов специфической цитотоксичности (CD8+) и регуляторных клеток (чаще CD4+, CD25+) с функциональной ориентацией на супрессию;

-изменение субпопуляционного состава Т-хелперов (в основном соотношения Th1- и Th2- субпопуляций), сопровождающееся расстройством продукции функционально оппозитных цитокинов, которые продуцируются этими клетками; в результате нарушается сбалансированность клеточного и гуморального иммунного ответа.

Особый вариант дисбаланса возможен также между биологическими клеточными программами, запускающими процессы пролиферации и апоптоза в ИКК. Это наблюдается при воздействии на ИКК факторов вирулентности микроорганизмов и физиологически активных биорегуляторов (гормонов, тканевых медиаторов, цитокинов, активных радикалов кислорода и других радикалов) в избыточных концентрациях. Косвенными признаками данного дисбаланса является нарушение соотношения между CD25⁺-, CD30⁺- и CD95⁺-субпопуляциями Т-лимфоцитов.

Кроме того, при сепсисе бактериальные суперантигены могут вызывать еще одну форму количественного и качественного дисбаланса, связанную с нарушением клональной активации и формированием поликлональной иммунореактивности.

Иммунные дефекты при тяжелом сепсисе постоянные и носят структурно-функциональный характер [2,с.16-25;11,с.10-20;17,с.3-8;51]. Они выражаются в снижении общего количества Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, коэффициента Тх/Тс, С-4 компонента комплемента, интенсивности фагоцитоза, иммуноглобулинов [11,с.10-20;34,с.8-12;52-59]. Снижением способности моноцитов секретировать провоспалительные цитокины [60]. Хотя уровень этих цитокинов в крови повышен [61,62].

В патогенезе септического шока самое непосредственное участие принимает гиперцитокинемия совместно с NO, приводящая к вазодилатации. Мало того, местная регуляция в микроциркуляторном русле нарушена из-за появления под действием цитокинов на цитоплазматических мембранах НГ и моноцитов, молекул клеточной адгезии. Также, при септическом шоке, TNF α участвует в нарушении процессов аккумуляции энергии при аэробном клеточном дыхании.

Иммунная недостаточность имеет место во всех фазах сепсиса, последовательно трансформируясь из недостаточности регуляторного типа в тотальную несостоятельность [15,с. 10-15].

Системная несостоятельность иммунной системы развивается как результат интегрального действия следующих факторов и патологических реакций [63]:

-эндотоксиновой толерантности мононуклеарных фагоцитов;

-уменьшения количества клеток-эффекторов реакций иммунореактивности и эффекторных молекул;

-блокады активационного и эффекторного потенциалов антигенраспознающих клеток, а также лимфоцитарных моноклеаров, относящихся к специфичным к антигену клонам лимфоидных клеток.

Имеющаяся при сепсисе системная иммунодепрессия складывается из двух равнозначных и взаимосвязанных составляющих: неспецифической и специфической иммунодепрессии. Иммуносупрессорные факторы и механизмы системной иммунодепрессии воздействуют как на систему неспецифической естественной резистентности организма (эндотоксиновая толерантность моноцитов, анергия других фагоцитов), так и на систему адаптивного иммунитета (иммунопаралич В-лимфоцитов, анергия Т-лимфоцитов) [2,с.16-25;17,с.3-8;64,65]. Факторами иммуносупрессии могут быть как специфические (избыток антигена, супрессорные факторы специфичных лимфоцитов), так и неспецифические регуляторные молекулы (катехоламины, глюкокортикоидные гормоны, простагландины, TGF β , IL-1Ra), цитокины (IL-4, , IL-6, , IL-10), а также клетки (В- и супрессорные Т-лимфоциты). Кроме того, растворимые формы рецепторов TNF α и эндогенный рецепторный антагонист IL-1 связывают провоспалительные цитокины в крови и межклеточных пространствах, и противодействуют реализации их активности [2,с. 16-25;17,с. 3-8;66,67].

Масштаб настоящего обзора не предусматривает детального изложения всех основных компонентов иммунопатогенеза сепсиса. Поскольку предмет наших интересов является – цитокиноterapia в комплексном лечении хирургического сепсиса, то далее изложение будет касаться, главным образом, иммунодепрессии как значимого звена патогенеза. А точнее – значению дисбаланса цитокинов и дефицита продукции эндогенного IL-2 в патогенезе дисфункций иммунной системы при сепсисе. Эти вопросы достаточно подробно освещены в специальной литературе [2,с.16-25;15,с.10-15;17,с.3-8;40, с.25;68-73].

Как известно, при сепсисе в организме последовательно развиваются две системные реакции: синдром системной воспалительной реакции (Systemic inflammatory Response syndrome – SIRS) и синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (Compensatory inflammatory syndrome – CARS).

В первую фазу сепсиса (SIRS) в ответ на экзо – и эндогенные суперантигены в организме больного наблюдается так называемый «цитокиновый взрыв» - повышенная продукция провоспалительных цитокинов, которые являются ключевыми медиаторами противоиnфекционной защиты [9,с.9-16;48,с.24-30;61,с.10-16]. Однако их избыточная и генерализованная системная продукция отнюдь не означает высокую противоиnфекционную эффективность, и даже более – может привести к развитию бактериально-токсического шока и формированию органных дисфункций, что и обуславливает летальный исход на ранних этапах сепсиса.

В конце прошлого века были выполнены большое количество исследований, направленных на установление центрального медиатора (медиаторов) сепсиса, т.е. цитокина -(ов), без которых невозможен «каскад» септических реакций. В качестве такого цитокина (цитокинов) рассматривались TNF α [74-78], фактор активации тромбоцитов, IL-6 [75,с.12-18;78,с.12-18]. Однако большинство этих исследований не дали каких-либо достоверных результатов. Поэтому сейчас развитие СВР иммунной системы рассматривается в виде так называемой цитокиновой сети, где множество агентов способны заменять друг друга, давая нужный эффект различными путями [23,с. 20-27;79-81].

CARS является ответной реакцией на системную воспалительную реакцию (SIRS), и направлена на восстановление гомеостаза посредством повышенной продукции противовоспалительных цитокинов и растворимых ингибиторов провоспалительных цитокинов. При этом одновременно наблюдается глобальное снижение способности мононуклеарных клеток продуцировать провоспалительные цитокины, т.е. имеют место процессы нарушения их активации и истощения цитокинпродуцирующей функции [82,83].

Однако при чрезмерной выраженности и/или длительном течении CARS возникает иммунодепрессия. Последняя, способствует персистенции бактериального патогена, присоединению госпитальной инфекции и формированию полиорганной недостаточности (ПОН). В совокупности это и определяет летальный исход на поздних этапах сепсиса [84].

Ведущая роль в патогенезе сепсиса различной этиологии отводится продуцируемому в ответ на суперантигены грамположительных бактерий, моноцитами и Т-клетками медиаторами воспаления провоспалительных цитокинов. Так, липополисахариды микробного происхождения, взаимодействуя с моноцитами и нейтрофильными гранулоцитами (НГ), стимулируют продукцию этими клетками IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF α , Связываясь с HLA-DR-антигеном на антигенпрезентирующих клетках и V β рецептором Т-лимфоцитов, названные суперантигены активируют Т-клетки и моноциты. Следствием чего является синтез IL-1, IL-2, TNF α , , IFN γ [48,с. 275-285;85].

Как было сказано ранее, в ответ на SIRS запускаются компенсаторные механизмы регуляции обратной связи (feed – back) – синтез и продукция противовоспалительных медиаторов, в т.ч. цитокинов (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGF β), простагландина E $_2$ (PGE $_2$), глюкокортикоидных гормонов, растворимых рецепторов провоспалительных цитокинов. Эти биологически активные вещества способны подавлять активность различных клеток, участвующих в осуществлении механизмов иммунореактивности (в первую очередь, Т-лимфоцитов), и рецепторные антагонисты провоспалительных цитокинов, блокирующих активационные сигналы провоспалительных цитокинов.

Важной составляющей неспецифической иммунодепрессии также являются иммуносупрессорные механизмы, противодействующие системной поликлональной активации лимфоцитов, характерной для генерализованных инфекциях.

Особо следует отметить, что факторы иммуносупрессивной природы и механизмы развития общей иммунодепрессии могут быть не зависящими от генерализации воспаления. Это можно объяснить многокомпонентным характером общей иммунодепрессии при сепсисе, которой так же, как и SIRS, присущи характеристики системного состояния [2,с.16-25].

Чрезмерная активация моноцитов эндо- и экзотоксинами, компонентами комплемента и продуктами распада тканей, усиливает продукцию ими PGE_2 – сильного иммунодепрессанта, ингибирующего пролиферацию Т-лимфоцитов, синтез IL-2 и экспрессию его рецепторов [84, с.6-15]. Кроме того, PGE_2 является кофактором, способствующим дифференцировке Т-лимфоцитов в сторону Th2-субпопуляции, продуцирующей иммунодепрессивные лимфокины - IL-4 , IL-10 [86].

При иммуносупрессии моноциты находятся в состоянии анергии, что проявляется снижением экспрессии HLA-DR-молекул, костимуляторных молекул CD86, CD56, продукции IL-1 , IL-6 , IL-12 , $\text{TNF}\alpha$. При этом моноциты снижают способность к костимуляции и антигенпрезентации, теряют способность обеспечивать антигенспецифический иммунный ответ Т-лимфоцитами.

Сниженный синтез IL-12 – одна из причин смещения баланса в сторону Th2-клеток, а продуцируемые моноцитами IL-10 и PGE_2 оказывают на Т-лимфоциты прямое супрессорное действие [87].

Функциональная активность моноцитов угнетается вследствие сниженного синтеза гранулоцитарно-макрофагального колония-стимулирующего фактора (ГМ-КСФ), защищающего клетки от апоптоза. Результатом является программированная гибель ИКК (например, моноцитов и Т-лимфоцитов), приводящая к выраженной лимфоцитопении [88-90].

Особо следует подчеркнуть, что при тяжелом сепсисе имеет место дисбаланс регуляции цитокинов всех функциональных групп. К ним относятся медиаторы доиммунного воспаления, регуляторы активации пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, регуляторы иммунного воспаления, факторы роста клеток-предшественников гемопоэза. То есть, иммунопатогенез сепсиса включает в себя не только дисбаланс цитокинов с про- и противовоспалительными эффектами [2,с.16-25;63,с. 18-25;91].

Дефицит эндогенного IL-2 имеется сразу же при развитии SIRS, нарастает по мере углубления этой фазы и становится наиболее выраженным в течение следующей фазы - CARs. Результатом является неспособность иммунной системы противостоять как патогенным, так и нозокомиальным микроорганизмам [15,с.10-15;92,93].

Обобщая вышеприведенное, следует полностью согласиться с мнением [2,с.16-25], согласно которому вторичную иммунную недостаточность - как проявление острой дисфункции иммунной системы – с полным основанием следует признать одним из основных патогенетических звеньев тяжелого сепсиса. Составляющими ее являются:

- расстройства основных процессов регуляции иммунореактивности и последующая структурно-функциональная дезинтеграция иммунной системы;
- общая иммунодепрессия;
- нарушение участия иммунной системы в интеграционно-регуляторных взаимодействиях с основными органно-физиологическими системами организма.

В заключении настоящий подраздел настоящего обзора, можно перечислить наиболее значимые при сепсисе патогенетические расстройства иммунной системы [2,с. 16-25]:

- абсолютная лимфоцитопения на фоне лейкоцитоза с палочкоядерным сдвигом;
- нарушение презентации антигенов моноцитами/макрофагами;
- нарушение пролиферации лимфоцитов и клеточной кооперации;
- функциональная недостаточность клеточных компонентов иммунореактивности;
- прямые и косвенные дефекты иммунорегуляции.

Таким образом, при тяжелом сепсисе основная патогенетическая роль принадлежит не только и не столько выраженной SIRS, сколько связанной с CARS иммунодепрессией. Это обосновывает целесообразность в комплексном лечении сепсиса биотехнологических цитокиновых препаратов с провоспалительной активностью, а точнее, цитокинов, обладающих иммунорегуляторным действием («цитокиноterapia сопровождения»). В этом плане хорошо зарекомендовал себя рекомбинантный (генно-инженерный дрожжевой) IL-2 - Ронколейкин®.

1.1.2 Иммунодепрессия в патогенезе полиорганной недостаточности

Более чем у 80% больных сепсисом глубокая иммунная депрессия и дисбаланс цитокинов сочетаются с полиорганной недостаточностью [2,с.16-25]. Тяжелые иммунные расстройства при сепсисе принимают самое непосредственное участие в формировании и углублении синдрома полиорганной недостаточности. Кроме гуморальных факторов механизмы повреждения клеток и тканей могут реализовываться различными клетками, участвующих в реализации естественной резистентности и специфического (адаптивного) иммунитета. Причем может иметь место как непосредственное участие в повреждении, так и посредством выделения различных факторов со свойствами агентов альтерации, а также регуляторных молекул. Цитокины в избыточных концентрациях, так же как и чрезмерно активированные цитотоксические и эндотелиальные клетки, – являются факторами повреждения при сепсисе. Настоящий вопрос достаточно подробно освещен в специальной литературе [2,с.16-25;10,с.451-456;17,с.3-8]. В данном случае иммунные расстройства носят бимодальный характер, то есть, как правило, разнонаправленные; могут быть активационными либо депрессивными. На ранних этапах сепсиса, в стадию доминирования SIRS-синдрома, ранняя полиорганная недостаточность формируется за счет активационной

дисфункции иммунной системы. С одной стороны, факторы и механизмы врожденного иммунитета в условиях нарастающей антигенемии могут оказаться недостаточными, что усиливает генерализацию инфекции. С другой стороны, что крайне важно, некоторые факторы естественной резистентности, являясь агентами, которые, так же как и иммуноглобулины, активируют систему комплемента, что при суперактивации может способствовать альтерации собственных клеток и тканей, приводя к развитию ранней ПОН.

Провоспалительные цитокины (TNF α , IL-1 β , IL-6) за счет выраженных системных эффектов принимают самое непосредственное участие в формировании и развитии полиорганной дисфункции. Бактериальные токсины связываются с соответствующими клеточными рецепторами и активируют внутриклеточные регуляторные белки (транскрипционный фактор NF-kB и др.), что резко повышает экспрессию генов TNF α и IL-1 β . Последние в избыточных концентрациях стимулируют продукцию IL-6 и IL-8, а также эйкозаноидов: тромбоксанов, лейкотриенов, факторов активации тромбоцитов, простагландинов, активированных компонентов системы комплемента.

Экспрессируясь на эндотелиоцитах и некоторых других клетках первичные провоспалительные цитокины высвобождают особую форму синтетазы NO -индуцибельную синтетазу (iNOS). Таким образом TNF α и IL-1 β увеличивают системный уровень NO посредством экспрессии iNOS в эндотелиальных, гладкомышечных клетках сосудов и мононуклеарных фагоцитах. Продукт реакции NO со свободными радикалами (пероксинитрит) обладает мощным и неселективным цитотоксическим действием.

Из приведенного следует, что избыточные концентрации первичных провоспалительных цитокинов реализуя зависимые от NO и независимые от него системные функции, являются медиаторами ПОН.

Поздняя системно-органная несостоятельность в компенсаторную стадию SARS-синдрома формируется на фоне глубокой общей иммунодепрессии.

То есть, прежде всего, при сепсисе имеет место несоответствие чрезмерного этиопатогенетического воздействия функциональным возможностям системы иммунитета. Генерализованная инфекция становится неуправляемой. Формируется и усугубляется дисбаланс регуляторных систем, контролирующей воспалительную реакцию, - цитокинов и других факторов.

В отличие от локальной продукции и активации провоспалительных цитокинов, при системной активации их мишенью становятся многие ткани и органы, ранее не вовлеченные в инфекционный процесс. Это и является повреждающим действием цитокинов, приводящее к патологии органов сердечно-сосудистой системы и позже к полиорганной недостаточности. В генезе ПОН ведущая роль принадлежит нарушению кровообращения, приводящему к гипоксии тканей и органов. Вследствие действия эндотоксинов и провоспалительных цитокинов на макрофаги, гладкомышечные клетки, гепатоциты и эндотелий увеличивается продукция NO – главного медиатора вазодилатации. Активируется каскад коагуляции и система комплемента [79,с. 12-30;94,95].

Системная вазодилатация, в совокупности со сниженным общим периферическим сосудистым сопротивлением, усиливает доставку лейкоцитов в капилляры. Имеющаяся в начальной фазе сепсиса гиперцитокинемия, приводящая к структурным изменениям эндотелия венул, способствует задержки НГ и активации их с последующим вовлечением в патогенез генерализованного воспаления. $TNF\alpha$ значительно усиливает адгезию циркулирующих НГ и моноцитов, и стимулирует миграцию их в ткани. Далее лейкоциты активируются и приобретают способность секретировать медиаторы и участвовать в воспалении, не имеющем защитного значения, с альтерацией клеток и тканей.

Иммунные механизмы также участвуют в альтерации эндотелия сосудов микроциркуляторного русла. Они протекают по механизму цитолиза, опосредованного комплементом, и направленным к антигенам, клеткам и иммунным комплексам, которые фиксированы на эндотелии или базальной мембране стенок сосудов.

Происходящая дегрануляция базофилов и НГ, а также фрустрированный фагоцитоз агрегированных тромбоцитов сопровождаются избыточной концентрацией биологически активных аминов, протеаз, липидных медиаторов воспаления, анафилатоксинов (C5a, C4a, C3a), активных форм кислорода и других реакционных радикалов. Это вносит дополнительный вклад в альтерацию. Итогом является – генерализованный септический васкулит и микротромбозы сосудов.

На более поздних этапах генерализованного васкулита активированные мононуклеарные клетки секретируют провоспалительные цитокины и факторы агрегации тромбоцитов, а также становятся способными фагоцитировать различные биологические частицы, выполнять экзоцитоз свободных кислородных радикалов и протеаз. Это еще более усиливает экспрессию адгезивных молекул на мембранах НГ и эндотелиоцитов, повышает проницаемость стенок венул, усугубляя альтерацию стенок венул.

При тяжелом сепсисе и септическом шоке описанные процессы происходят одновременно в микроциркуляторных регионах почти всех органов, что способствует формированию и углублению полиорганной дисфункции.

Мощный хемоаттрактант (хемокин) для НГ - $IL-8$ способствует скоплению микрофагов в тканях и вместе с другими провоспалительными цитокинами ($IL-1$, $TNF\alpha$, $IFN\gamma$) стимулирует их прооксидативную и протеолитическую активность. Вырабатываемые при этом активные радикалы кислорода, продукты их взаимодействия с NO (пероксинитриты) и протеолитические ферменты НГ вызывают деструкцию окружающих тканей. Активные радикалы кислорода и продукты ПОЛ, в свою очередь, могут индуцировать избыточную продукцию провоспалительных цитокинов ($IL-1$, $IL-6$, $TNF\alpha$) и других медиаторов воспаления: гистамина, брадикинина, серотонина, производных арахидоновой кислоты – лейкотриенов, простагландинов, тромбоксанов.

При генерализованной воспалительной реакции резко возрастает тромбогенный потенциал сосудистого эндотелия, активированного цитокинами, биогенными аминами, кининами и тромбином.

Активированные эндотелиоциты продуцируют и высвобождают провоспалительные цитокины, прокоагулянты и вазоконстрикторные вещества, флогогенные агенты и свободные кислородные радикалы.

В условиях септицемии сочетанное действие бактериальных токсинов и медиаторов воспаления (TNF α , катехоламины) резко увеличиваются тромбогенные свойства сосудов и тромбоцитов, что объясняется массивной активацией сосудистого эндотелия [2,с.16-25]. В свою очередь, многие провоспалительные цитокины, особенно TNF α и IL-1, индуцируют выделение тканевых факторов (тромбопластина, ингибитора активации тканевого плазминогена), способных потенцировать коагуляцию.

Кроме того, микрососудистые тромбозы возникают под действием прокоагулянтной активности TNF α и IL-6. TNF α также способен подавлять активность тромбомодулина, следствием чего является ослабление антикоагулянтной активности крови [96,97].

Обобщая вышеперечисленное, можно сделать заключение, что при генерализации воспаления за счет избыточного расходования факторов фибринолиза антикоагулянтные системы истощаются, а прокоагулянтные активируются.

Таким образом, в патогенезе ПОН при сепсисе различают следующие системные эффекты провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6):

- системная вазодилатация и последующая гипотония (коллапс);
- повышенная проницаемость сосудов и экстравазация плазмы (интерстициальный отек);
- ДВС-синдром, коагулопатия потребления, кровоточивость;
- нарушение перфузии почек, печени, сердца и легких;
- гипертермия (активация гипоталамуса);
- гипогликемия и дисметаболизм клеток головного мозга;
- активация эндотелиоцитов и дисфункция эндотелия;
- существенная потеря массы тела (кахексия).

Вследствие их влияния наблюдаются увеличение сосудистой проницаемости, локальное повреждение тканей, миграция лейкоцитов, генерализация воспалительной реакции, повреждение легких, почек и в конечном итоге развитие синдрома полиорганной недостаточности [98,99].

При SIRS и ПОН структура повреждающих факторов многокомпонентная [2,с.16-25]. В первую очередь, сюда относятся секретлируемые и структурные факторы вирулентности инфекционных этиопатогенов и их суперантигены. Альтерация тканей происходит при непосредственном участии сторожевой полисистемы плазмы крови, медиаторов арахидонового каскада, и других эйкозаноидов, цитокинов, лейкотриенов, лизосомальных ферментов, активных форм кислорода и других свободных радикалов. Чрезмерно активированные эффекторные клетки также обладают цитотоксическим действием.

Перечисленные факторы способны оказывать прямое повреждающее действие на клетки и ткани. При этом либо блокируется поступление в клетки источников питания и кислорода, либо необратимо ингибируются основные реакции метаболизма и энергообеспечения. О патогенетической роли цитокинов в данных реакциях было сказано выше. В соответствии с темой настоящего обзора, ниже будут кратко рассмотрены только те механизмы повреждения, в которых принимают участие цитокины и другие компоненты системы иммунитета.

О роли провоспалительных цитокинов в свободно радикальном некробиозе также уже упоминалось ранее.

В повреждении клеток и тканей при сепсисе непосредственное участие принимают эффекты лизосомальных ферментов погибших клеток и фагоцитов, способных потенцировать более мощные агенты альтерации – активные радикалы кислорода. В условиях SIRS в реализации эффекторных механизмов вторичной альтерации важная роль отводится маркерным гидролазам тучных клеток и базофилов. Это триптаза - активатор кининовой системы и химаза, которая участвует в разрушении хондроитинсульфата сосудистой стенки, усиливая генерализованный васкулит. Так вот, химаза потенцирует также эффекты перфоринов, вырабатываемых цитотоксическими лимфоцитами.

Как известно, активаторами апоптоза лимфоцитов при генерализованной воспалительной реакции являются TNF α и глюкокортикоидные гормоны, а также практически все цитокины (интерлейкины, интерфероны), избыточно продуцируемыми активированными мононуклеарными клетками. Причем в клетках одного типа цитокин может индуцировать апоптоз, а в клетках другого типа ингибировать [100,101]. Активные кислородные радикалы также способны инициировать апоптоз. При сепсисе по мере снижения концентрации колониестимулирующих факторов (G-CSF и GM-CSF) в крови возрастает интенсивность апоптоза НГ.

Одним из основных механизмов вторичной альтерации с участием гуморального звена иммунной системы является реализация терминальной фазы активации системы комплемента – воздействие на мишень мембрано атакующего комплекса (C5-9). Его эффекты опосредуются специфическими иммуноглобулинами, С-реактивным белком, бактериальными лектинами и протеазами. Система комплемента активируется и на любых клетках, имеющих на своих мембранах антитела или иммунные комплексы.

При вторичной альтерации, особенно в условиях гиперэргии замедленного типа, большую роль играют клеточные механизмы повреждения – нейтрофильный и макрофагальный фагоцитоз. Этот древнейший механизм врожденного иммунитета иногда принимает форму «извращенного» фагоцитоза, направленного на альтерацию не только микробных возбудителей, но и собственных клеток и тканей. Кроме того, при сепсисе возможен так называемый фрустрированный фагоцитоз, реализуемый обычно тромбоцитами или в том случае, если объект фагоцитоза фиксирован в тканях. Фрустрированный фагоцитоз отличается необычно сильным экзоцитозом

медиаторов воспаления, сопровождается альтерацией объекта и окружающих его тканей.

Существуют также клеточные механизмы альтерации, не требующие на заключительном этапе поглощения клетки-мишени – «клеточно-опосредованная цитотоксичность» (антителозависимая и антителонезависимая). Жертвами клеточной цитотоксичности могут быть не только бактерии, но и собственные интактные клетки. Здесь вторичная альтерация осуществляется Т-киллерами, НК-клетками, лимфоидными К-клетками, макрофагами. Эффекторами антигензависимой клеточной цитотоксичности являются «профессионально» специализированные К-клетки. Это могут быть клетки любого происхождения (Т-лимфоциты, НК-клетки, макрофаги, эозинофилы), имеющие иммуноглобулиновый Fc-рецептор.

При антигеннезависимой клеточной цитотоксичности клетка-мишень распознается различными типами специализированных киллерных клеток. Т-киллеры (ЦТЛ/СЕТЛ-клетки) выполняют избирательную альтерацию, поскольку опознают мишени своим антигенраспознающим рецептором (TCR) в соответствии с главным комплексом гистосовместимости 90% цитотоксических Т-лимфоцитов имеют CD8-маркер, и поэтому их активность направлена на клетки, имеющие в составе своих мембран антигены ГКГС 1 класса. Данные белки экспрессируются всеми ядерными клетками организма; в связи с чем, специфические Т-киллеры участвуют в альтерации клеток любой ткани. 10% цитотоксических Т-лимфоцитов имеют CD4-маркер и опознают свои мишени в контексте антигенов ГКГС 2 класса.

Биологическим маркером НК-клеток является цитоплазматический Fc-рецептор для IgG (CD16). Специальный рецептор естественных киллеров опознает клетку-мишень без участия антигенов главного комплекса гистосовместимости по неизвестным поверхностным белкам.

Цитотоксические функции Т-киллеров и НК-клеток активируется IL-2. Часть НК-клеток избыточно активируется IL-2 и TNF α трансформируясь в клетки повышенного цитотоксического потенциала (LAK-клетки).

При SIRS миелоидные и лимфоидные агенты клеточной цитотоксичности могут комбинировать различные пути распознавания объектов альтерации. Молекулы клеточной адгезии обеспечивают контакт эффекторной клетки с клеткой-мишенью. При этом клетки определенного типа могут реализовывать несколько механизмов киллинга (перфориновый; посредством инъекции содержимого лизосом в клетку-мишень; воздействием выделяемого лимфотоксина, кахексина; цитотоксическим фактором НК-клеток). Сильным синергистом при этом выступает IFN γ – блокатор нуклеинового синтеза в клетках-мишенях.

Что касается внеклеточных структур-мишеней, то большинство цитокинов (TNF α ; IL-1; факторы роста тромбоцитов, фибробластов, эпидермиса) стимулируют лизис коллагена и аморфного вещества соединительной ткани.

Многофакторная иммунодепрессия на поздних этапах сепсиса во многом предопределяет формирование поздней (инфекционной, септической) ПОН.

Обычно она проявляется после периода относительного благополучия и является классическим вариантом вторичной органной недостаточности. Здесь в патогенезе определенную роль играют последствия хронизации воспаления по механизму реакции ГЧЗТ. При этом усугубление иммунных расстройств являются результатом нескольких основных причин, и реализуется при кооперативном взаимодействии основных патологических процессов. Под ними имеется в виду, прежде всего, прогрессивное уменьшение количества ИКК, необходимых для адекватного осуществления защитных реакций иммунитета. Немаловажное значение также имеет дисфункция иммунной системы вследствие регуляторного (преимущественно цитокинового) и субпопуляционного (фенотипического) дисбаланса клеточных компонентов и молекулярных факторов иммунореактивности. Одновременно развивается функциональная несостоятельность регуляторной и эффекторной функции ИКК.

В заключении настоящего подраздела можно констатировать, что при тяжелых формах сепсиса в генезе ПОН принимают участие множество различных по механизму и своей природе факторов, включая клетки иммунной системы и цитокины. Итогом же является формирование полиорганных патологических изменений как сути феномена полиорганных дисфункций, способных трансформироваться в полиорганную недостаточность (несостоятельность). Поэтому, дисфункция иммунной системы является значимым компонентом ПОН.

Клинические проявления развития ПОН определяются темпом и распространенностью системного васкулита и интенсивностью гибели клеток в жизненно важных органах[2,с.16-25].

Летальность при формировании ПОН колеблется от 35% до 75% и более [11,с. 10-20;102-104].

Вероятность летального исхода при сепсисе определяется количеством вовлеченных в синдром ПОН органов и его продолжительностью. По данным [105], при дисфункции одного органа летальность была на уровне 15%, двух органов – 32%, трех – 59,4%, четырех и более – 91,4%.

1.1.3 Иммунорегуляторные свойства IL-2

По данным В.К. Козлова, существуют прямые и опосредованные основные биологические эффекты IL-2 [2,с.16-25]. К прямым эффектам относятся:

- активация клональной пролиферации Т-лимфоцитов;
- стимуляция клеточной дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов;
- стимуляция клональной пролиферации В-лимфоцитов;
- увеличение синтеза иммуноглобулинов трех основных классов;
- увеличение функциональной активности мононуклеарных фагоцитов;
- уменьшение уровня спонтанного и активированного апоптоза Т-хелперов, В-лимфоцитов.

Опосредованными эффектами является:

- коррекция субпопуляционного баланса Th1- и Th2-клеток;
- коррекция профиля цитокиновой регуляции;
- увеличение продукции эндогенных интерферонов;
- повышение экспрессии молекул клеточной адгезии и рецепторов цитокинов на клеточных мембранах различных клеток;
- повышение экспрессии продуктов МНС I и II классов на клеточных мембранах и увеличение эффективности презентации антигенов;
- интенсификация пролиферации и дифференцировки эозинофилов и тромбоцитов;
- подавление эритроидного и миелоидного ростков кроветворения.

В ответ на инфузию IL-2 в организме вырабатываются антагонисты рецепторов IL-1, способствующие снижению воспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , TNF α) [106]. То есть, казалось бы, IL-2 – провоспалительный лимфокин можно признать противовоспалительным цитокином или цитокином, индуцирующим противовоспалительные реакции. Хотя этого нельзя утверждать с полным основанием, что станет ясно из ниже приведенного.

Особое значение среди цитокинов при сепсисе имеет IL-2. Он является ключевым звеном, определяющим характер гуморальных и клеточных иммунологических реакций, направленно влияет на рост, пролиферацию, дифференцировку и активацию Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, клеток Лангерганса. От его присутствия зависит цитолитическая активность естественных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов. IL-2 усиливает антимикробную активность лимфокинактивированных клеток и макрофагов. Установлено, что в ранние сроки развития сепсиса происходит снижение уровня IL-2. Это способствует развитию недостаточности клеточного и гуморального звеньев иммунитета, процессов фагоцитоза и антимикробной защиты [107-110]. Цитокины участвуют в иммунных реакциях нейтрофилов и других клеток миелоидного ряда, выполняют важную роль в интеграции механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, обеспечивают селекцию антигенспецифических Т- и В-лимфоцитов, а также поляризацию эффекторных иммунологических реакций Th1-, Th2-, Th3-опосредованного типов. Взаимодействуя со специфическими клеточными рецепторами, цитокины могут оказывать стимулирующее или подавляющее влияние на пролиферацию, дифференцировку, миграцию, эффекторную функцию иммунокомпетентных клеток. При этом один и тот же цитокин (TNF- α , IL-2, IL-4 и др.) может оказывать разнонаправленное действие в зависимости от его концентрации, типа рецептора на клетке и ее функционального состояния.

Основными клетками, продуцирующими IL-2, являются активированные Th1CD4+ (90% лимфокина) и CD8+ (10%) –лимфоциты [111,112]. Секреция данного цитокина выявляется через 3-4 часа после стимуляции, достигая пика через 8-12 часов и прекращается через 24 часа [15,с. 10-15].

Для Т- и В-клеток, а также для НК-клеток названный лимфокин считается фактором роста и дифференцировки. Усиливает синтез моноцитами активных форм кислорода и перекисей.

T-лимфоциты являются единственными клетками, способными экспрессировать ген IL-2. Его экспрессия строго контролируется антигенраспознающим комплексом T-лимфоцитов (TCR), происходит параллельно с активацией клетки, достигая максимума через 6-18 часов и прекращается через сутки [15,с. 10-15].

Высокоаффинные рецепторы к IL-2 располагаются на мембранах покоящихся T-клеток, NK-клеток и моноцитах [111,с.15-20 ;112,с. 32-45].

IL-2 влияет на секрецию цитокинов активированными CD4+-лимфоцитами и экспрессию соответствующих рецепторов на их мембранах, усиливает продукцию IFN γ и IL-2, предохраняет активированные T-клетки от апоптоза [15,с. 10-15].

Для CD8+-лимфоцитов IL-2 также является ростовым и дифференцировочным фактором, стимулирует их цитотоксичность [15,с. 10-15].

IL-2 оказывает аутокринное воздействие на субпопуляцию Th1-лимфоцитов и паракринное - на Th2-клетки; таким образом влияя на Th1/ Th2 баланс [113].

После первичного иммунитета под действием данного цитокина формируется популяция T-лимфоцитов памяти [15,с. 10-15].

Для B-лимфоцитов IL-2 не является необходимым фактором роста, но влияет на отдельные этапы транскрипции [15,с.10-15].

Активированные B-лимфоциты экспрессируют высокоаффинный IL-2R и отвечают на IL-2. Плазматические клетки усиливают выработку иммуноглобулинов при участии также IL-2; при этом возможно преодоление Ig-генного контроля (контроль интенсивности ответа на конкретную антигенную детерминанту) антителообразования [15,с.10-15]. Функциональный ответ B-лимфоцитов зависит от характера стимуляции. Так, например, мощным стимулятором для них является липополисахарид (ЛПС). Тогда как, IL-4 и IL-5 не влияют на выбор изотипа иммуноглобулинов [15,с. 10-15].

В отношении NK-клеток IL-2 увеличивает спектр их цитотоксической активности, но не влияет на их пролиферативную активность. Однако отдельные NK-клетки, экспрессирующие высокоаффинный IL-2R (лимфокинактированные киллеры - ЛАК-клетки) в культуре мононуклеаров отвечают на стимуляцию IL-2 как повышением цитотоксичности, так и повышением пролиферативной активности [114,115]. Настоящий механизм нашел применение в так называемой ПАК-терапии опухолей.

Под действием IL-2 у моноцитов возрастает способность уничтожать опухолевые клетки и бактерии. Усиливается выработка этими мононуклеарными клетками биологически активных веществ и медиаторов воспаления: свободных радикалов кислорода, PGE $_2$, тромбксана B $_2$, TNF α .

IL-2 существенно повышает противогрибковую активность НГ за счет стимуляции у них синтеза TNF α и лактоферина.

Под влиянием IL-2 активируются процессы репарации и регенерации.

Данный лимфокин повышает синтез эозинофилов и тромбоцитов, одновременно уменьшая синтез эритроцитов; способствует развитию очагов экстрамедуллярного кроветворения.

IL-2 увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера и влияет на целостность эндотелия сосудов мозга.

Так же рассматриваемый лимфокин способствует регенерации поврежденных нейронов, оказывает влияние на их электрофизиологические функции. Активирует парасимпатический отдел вегетативной нервной системы. Регулирует экспрессию генов в клетках гипофиза.

Вырабатываемый клетками гипоталамуса и гипофиза IL-2 обладает анальгетическим действием на периферическую нервную систему, а также ноотропным эффектом [116].

В целом можно, с полным основанием, утверждать, что IL-2 обеспечивает сопряженную работу интегративных биологических систем: иммунной, нервной и эндокринной [2, с. 16-25; 73, с. 28].

Неадекватный адаптивный иммунный ответ при тяжелом сепсисе во многом обусловлено дефицитом эндогенного IL-2. IL-2-зависимые иммунные дисфункции - являются также следствием расстройства восприятия активационного сигнала цитокинов специализированными рецепторами клеток, снижение цитокинов и другие регуляторные дефекты [2, с. 16-25; 117].

Патогенетическими составляющими вторичной иммунной недостаточности, зависящие от дефицита продукции IL-2 мононуклеарными клетками, следующие [2, с. 16-25]:

- анергия и недостаточность эффекторных функций мононуклеарных фагоцитов, специфических (CTL-клетки) и естественных (NK-клетки) киллеров;

- дисбаланс цитокиновой регуляции клеточной кооперации;

- сниженная экспрессия маркеров клеточной активации (CD-25 на лимфоцитах и HLA-DR на моноцитах/макрофагах и антигенпрезентирующих клетках);

- нарушенная антигензависимая пролиферация и дифференцировка T- и B-лимфоцитов;

- сниженный синтез иммуноглобулинов;

- усиленный апоптоз лимфоцитов и моноцитов.

Как видим, вышперечисленные иммунные расстройства являются основными механизмами в иммунопатогенезе тяжелого сепсиса, что еще раз подтверждает ведущую роль в их формировании и развитии дефицита эндогенного IL-2.

Отмечено, что при сепсисе раны, содержащие некротизированные ткани, способны индуцировать аутоиммунные процессы [118]. Раневые макрофаги секретируют TNF α , который является агентом заживления [119]. Однако TNF α , как и многие другие процессы в ране, подавляют продукцию IL-2 [120]. При больших ранах может происходить массивный выброс в кровеносное русло

иммунодепрессивных продуктов макрофагального происхождения, ингибирующих синтез IL-2 (PGE₂, TNFα, тромбоксана A₂) [121,122].

Установлено, что при сепсисе между манифестацией признаков SIRS и уровнем продукции IL-2 мононуклеарными клетками имеется обратная прямая зависимость[2]. То есть у больных с клиническими признаками SIRS имеют место значимые IL-2 - зависимые иммунные нарушения.

Сдвиг баланса цитокиновой регуляции в сторону иммуносупрессорных реакций (возрастание концентрации противовоспалительных цитокинов – фаза CARS), что наиболее выражено при септическом шоке, прямо коррелирует с тяжестью клинического состояния пациентов [82,с. 22-25].

1.2 Ронколейкин® в комплексном лечении хирургического сепсиса

По данным В.К. Козлова, основными факторами, определяющими эффективность лечения больных тяжелым сепсисом [2,с. 16-25], являются:

- инвазивность инфекционного возбудителя;
- исходное состояние организма, в первую очередь – наличие или отсутствие иммунодефицита;
- клиническая форма сепсиса, оперативность его диагностики, время начала лечения;
- полнота санации очага инфекции; правильный выбор стратегии и тактики других направлений проводимого лечения.

Вышеописанные тяжелые иммунные дисфункции при сепсисе, касающиеся Т-лимфоцитарно - моноцитарной структурно-функционального иммунодефицита, вне всяких сомнений, обосновывают назначения мощных иммунокорректоров с соответствующим спектром фармакодинамической активности [15,с. 10-15][23].

Преимущества цитокиновых препаратов по сравнению с другими иммуномодуляторами хорошо известны [15,с. 10-15]:

- эффективность подтверждена различными международными многоцентровыми рандомизированными научными исследованиями;
- разработаны международные методические стандарты назначения для лечения конкретных заболеваний и иммунных нарушений;
- возможно точное прогнозирование и контроль иммунного ответа;
- выраженность иммунотерапевтического эффекта.

К.-Т. Chong в эксперименте на модели грамотрицательного септического шока доказал высокоэффективные ортостатические свойства бактериального rIL-2 человека [124].

Ронколейкин® уже более трех десятилетий успешно применяется в России и странах СНГ при лечении хирургических гнойно-септических заболеваний [7-16]. Высокая эффективность препарата доказана по критериям исхода, клинического, детоксикационного и корригирующего эффектов. Сформулировано представление о патогенетической иммуноориентированной терапии данным цитокиновым препаратом [125].

Иммунный медиатор ИЛ-2 впервые был описан в 1976 г. как фактор роста Т-клеток, а очищен и охарактеризован в 1980 г. В 1983 году впервые в мире был клонирован ген ИЛ-2. Сотрудниками ООО «Биотех» уже к 1988 году был создан биотехнологический препарат рекомбинантного ИЛ-2 (рИЛ-2), готовый к проведению доклинических испытаний. Способ получения рекомбинантного ИЛ-2 в клетках дрожжей и штамм-продуцент были запатентованы (дата приоритета 24.03.1992). Препарат в дальнейшем прошел все необходимые стадии доклинических и клинических испытаний. Ронколейкин® зарегистрирован в Российской Федерации и разрешён для медицинского применения и промышленного выпуска Приказом Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации № 249 от 31 августа 1995г.

Препарат, кроме России, в настоящее время также зарегистрирован в Белоруссии (1997), Казахстане (2000), Грузии (2000), Узбекистане (2003).

По данным В.К Козлова [2,с.16-25], основные иммуноориентированные эффектами Ронколейкина® являются:

- активация клональной пролиферации Т- и В-лимфоцитов;
- усиление эффекторного потенциала цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров;
- усиление функциональной активности мононуклеарных фагоцитов и антигенпрезентирующих клеток;
- увеличение синтеза специфических иммуноглобулинов большинства изотипов;
- снижение апоптоза мононуклеаров.

Следствием вышеназванных механизмов являются следующие клинко-иммунологические эффекты при проведении цитокинотерапии Ронколейкином® [17,с. 3-8]:

- мобилизация адаптивного иммунитета;
- восстановление цитокинового баланса регуляции SIRS-синдрома;
- коррекция системной иммунодепрессии;
- обеспечение abortивного течения инфекции в местных септических очагах и возможность асептической секвестрации очагов некроза;
- активация процессов репарации и регенерации, поврежденных факторами системного воспаления и факторами вирулентности микроорганизмов тканей.

Применение Ронколейкина® при сепсисе сопровождается ликвидацией эндогенного ИЛ-2 в организме, снижением процессов апоптоза Т-лимфоцитов, повышением количества CD4+, нормализацией соотношения Th1/Th2, усилением функции NK-клеток, повышением синтеза иммуноглобулинов [15,с. 10-15]. Повышение продукции эндогенного ИЛ-2 приводит к восстановлению адекватного иммунного ответа. В результате этого резко возрастает антибактериальная активность организма и вероятность положительного исхода сепсиса [15,с. 10-15;126-138].

Назначение Ронколейкина® в комплексном лечении сепсиса основывается на универсальных принципах назначения иммунотерапии рекомбинантными цитокинами [15,с. 10-15]:

- определение патогенетически обоснованных показаний и цели иммунотерапии (профилактика, стимуляция, заместительная терапия);

- оценка абсолютных и относительных противопоказаний, возможных побочных эффектов и реакций;

- составление программы иммунотерапии и ее лабораторного мониторинга. Корректировка базисной терапии в зависимости от плана цитокинотерапии;

- оценка эффективности.

Ронколейкин® способен воздействовать на основные функции иммунной системы, формируя адекватную иммунореактивность в условиях специфической активации [15,с. 10-15].

Ронколейкин® не является ксенобиотиком, поэтому не обладает токсичностью. Как аналог естественного компонента иммунорегуляции, он встраивается в цепочку адекватного иммунного ответа. Обладает однозначным и контролируемым эффектом [15,с. 10-15;139-145].

Являясь универсальным иммунокорректором, Ронколейкин® эффективен в отношении всех патогенных микроорганизмов, в зависимость от степени нарушения иммунореактивности [146].

Хирургический сепсис любой этиологии является абсолютным показанием к назначению Ронколейкина®. При этом основными клинико-лабораторными, подтверждающими диагноз сепсиса являются [15,с. 10-15;147]:

- клинические проявления инфекционного синдрома;

- лимфопения - менее $1,4 \times 10^9$ /л и/или относительного количества;

- снижение абсолютного количества CD3-позитивных лимфоцитов.

Состояние иммунодепрессии определяется долей апоптотических клеток и экспрессией маркеров апоптоза: содержание апоптотических лимфоцитов – более 10%, апоптотических НГ – более 18%. А также суммарная супрессивная активность всех факторов сыворотки крови [15,с. 10-15;148]. При значении индекса супрессорной активности (ИСА) менее 0,8 имеется глубокая иммунодепрессия лимфоидной составляющей клеточного звена иммунитета. При утяжелении ПОН и развитии септического шока ИСА максимальной величины [71,с. 438].

Снижение относительного содержания HLA-DR-позитивных моноцитов менее 30% также свидетельствует о состоянии иммунодепрессии [15,с. 10-15;51].

Совершенно очевидно, что наблюдаемые при развитии сепсиса выраженные иммунные дисфункции требуют применения иммуностимуляторов с хорошей доказательной базой и соответствующим спектром фармакологической активности. Применение иммуностимуляторов в комплексе современных методов лечения способствует восстановлению клинико-лабораторных показателей, ускоряет заживление тканей, способствует ранней реабилитации пациентов. Однако, несмотря на это, существует ряд

проблемных вопросов: выбор препарата, сроки, показания и метод их применения у больных с развитием сепсиса, сроки начала и длительность терапии.

Для эффективной иммунокоррекции при сепсисе необходимы препараты, обладающие широким спектром иммуотропной активности. При системной иммунодепрессии способные одновременно воздействовать на предшественники клеток-эффекторов и на зрелые ИКК (продуценты иммуноглобулинов и цитотоксические лимфоциты; Т- лимфоциты-хелперы; другие мононуклеары, участвующие в процессах фагоцитоза, презентации и переработки антигенов). Этими качествами обладает дрожжевой rIL-2 - Ронколейкин® [17,с. 3-8].

При проведении клинического исследования эффективности включения иммунотерапии дрожжевым рекомбинантным IL-2 в комплексное лечение хирургических пациентов с гнойно-септической патологией в стационарах г. Новосибирска, обосновывает требования, предъявляемые к эффективному иммунокорректору [104,с. 35-48;149-151].

Цитокинотерапия Ронколейкином® - действенное средство профилактики и терапии гнойно-септической патологии в хирургии. При комплексном лечении хирургических больных с включением цитокинотерапии существенно снижается летальность пациентов от полиорганной недостаточности в ранние сроки развития септического процесса и от последствий глубокой общей иммунодепрессии в отдаленные сроки.

Показанием к назначению Ронколейкина® является хирургический сепсис любой этиологии. Назначается препарат в максимальный ранний период развития сепсиса и тяжелого сепсиса. При септическом шоке – после выведения больного из шока на протяжении всего постшокового периода [2,с. 16-25].

Высокая клиническая эффективность препарата при гнойно-септической патологии в хирургии связана с ярко выраженным детоксикационным и иммунокорректирующим действием проводимой цитокинотерапии, что увеличивает возможности противоинфекционной защиты организма пациента. При тяжелой механической травме и развитии сепсиса различной этиологии включение цитокинотерапии Ронколейкином® в состав комплексной интенсивной терапии оказывается средством профилактики осложнений [152].

Ронколейкин® назначается вместе со средствами антибактериальной и детоксикационной терапии, высококалорийным питанием, иммуноглобулиновыми препаратами, анаболическими стероидами, антиоксидантами и средствами для симптоматического лечения [36,с. 450-452;127,с. 26-28;153,154].

В комплексной интенсивной терапии сепсиса Ронколейкин®, как правило, применяется внутривенно. Для стабилизации препарата обычно используют человеческий сывороточный альбумин – на 400,0 мл физиологического раствора 4-8 мл. 10% раствора альбумина. Длительность инфузии препарата 4-6 часов, скорость введения 1-2 мл./мин.

Схемы иммунотерапии Ронколейкином® определяются ее целевой установкой и клинико-иммунологическим статусом больного сепсисом [15,с. 10-15].

Если у больного сепсисом имеет место жизнеугрожающее состояние (значительная кровопотеря, шок, гипоксия, эндотоксикоз), сразу же при поступлении больному внутривенно вводится 0,5 мг препарата. Повторная инфузия производится через 2-3 суток. В тяжелых случаях общее количество инфузий может быть до 4-5.

Если имеется недостаточность клеточного звена иммунитета, применяются различные режимы в зависимости от характера иммунореактивности больного.

При адекватной реактивности организма и отсутствии чрезмерно выраженного SIRS-синдрома - проводится короткий курс: 2-3 внутривенных введения с интервалом 2-3 суток (при подкожном введении – до 4-5 инъекций). Разовая доза препарата составляет 0,25-0,5 мг.

Если же имеет место иммунодепрессия на фоне гипозергического варианта реактивности организма, назначение Ронколейкина®, прежде всего, преследует цель – профилактику генерализации инфекции и хронизации гнойного процесса. Назначают повторные курсы по 2 введения в дозе 0,5-1,0 мг, через двое суток. Интервал между курсами - 3 дня. Максимальное число курсов – 4.

При тяжелой ожоговой травме Ронколейкин® назначается больным в дозе 0,5-1,0 мг ежедневно в течение 3-4 дней. При глубоком угнетении клеточного звена иммунитета, затрагивающем костномозговые предшественники, разовая доза может быть увеличена до 2,0 мг. [2,с. 16-25].

Эффективность Ронколейкина®, оценивается по динамике клинических, детоксикационных и иммунокорректирующих показателей [15,с.10-15;134,р. 25-45;137,с.35-45 ; 155,156].

Основной показатель эффективности лечения сепсиса – смертность в течение 28 суток. Использование в комплексной терапии Ронколейкина® позволило снизить данный показатель на 13,3-35%. Причем максимальный эффект отмечается у больных тяжелым сепсисом [23,с.453-454]. Это выражается в ускоренной положительной динамике состояния больных, снижением симптомов интоксикации, стойкой нормализацией температуры тела [155,р.15-28;157-159]. Подтверждением чего является объективная положительная динамика известных усредненных показателей тяжести состояния, проявлений эндотоксикоза, иммунного статуса. Так, средний балл тяжести состояния по шкалам APACHE и SAPS снижаются в два раза [51,с. 10-18;160]. О снижении тяжести эндотоксикоза свидетельствуют снижение лейкоцитоза и ЛИИ. В иммунограмме возрастает численность популяции лимфоцитов и основной субпопуляции Т-лимфоцитов, восстанавливается пролиферативный ответ мононуклеарных клеток, в два раза снижается уровень спонтанного и активационного апоптоза лимфоцитов [51,с. 10-18;161].

По данным В.К. Козлова, использование Ронколейкина® в комплексном лечении раненых и пострадавших от травм достоверно снизило частоту встречаемости и сроки развития проявлений СВО (в 2,25 раза и в 1,2 раза

соответственно) [2,с. 20-28]. Ранее (опережающее) назначение препарата больным острым деструктивным перитонитом снизило частоту развития панкреатогенного сепсиса на 8% (с 15,7 до 7,8%) [1,с. 448-450;109,с. 35-56;162].

Кроме того, уменьшаются сроки пребывания больных в палатах ПИТ и общие сроки стационарного лечения. Существенно снижается суммарная стоимость лечения, в первую очередь, за счет удешевления антибактериальной терапии [163].

Противопоказаниями для Ронколейкина® являются: беременность, острая и декомпенсированная хроническая сердечная, дыхательная, почечная недостаточность; ДВС-синдром; не санированные гнойные очаги; некупированный инфекционно-токсический шок, метастазы злокачественных опухолей в головной мозг; аллергия к дрожжам; индивидуальная непереносимость препарата [15,с. 10-20].

Иммунопрофилактика послеоперационных осложнений Ронколейкином® доказала свою эффективность в кардиохирургии [164].

В.К. Козлов к противопоказаниям цитокинотерапии Ронколейкином® относит только некупированный бактериально-токсический шок, декомпенсированную сердечную недостаточность, наличие системных аутоиммунных заболеваний. По его мнению, бактериально-токсический шок является относительным противопоказанием для проведения цитокинотерапии Ронколейкином®. После выведения больного из шока, достижения стабильной гемодинамики можно вводить препарат в разовых дозах 0,125-0,250 мг. При выраженной иммунодепрессии следует увеличивать не разовую дозу препарата, а курсовую [17,с. 3-8;144,с. 24].

В.К. Козлов считает, что выраженные проявление у больных сепсисом ССВО не может являться противопоказанием к назначению Ронколейкина®. В этих ситуациях автор рекомендует при использовании разовых доз препарата более 0,5 мг применять более медленное его введение в дозе не более 0,25 мг. [2,с. 20-28].

Следует помнить, что в некоторых клинических ситуациях активная манифестация аутоиммунных процессов может вносить вклад в специфические факторы иммунореактивности, вызывающие альтерацию тканей. В этих случаях должен быть взвешенный подход при определении возможности цитокинотерапии [17,с. 3-8].

Применение Ронколейкина® в комплексном лечении больных тяжелым сепсисом позволило снизить летальность на 29-33% [11,с. 221;40,с.418-422].

1.3 Эритроцитарные фармакоциты в лечении острых хирургических заболеваний с наличием гнойно-септических осложнений

В виду малой эффективности традиционных способов введения лекарственных препаратов возрос интерес к разработке и использованию направленного транспорта препаратов непосредственно в патологические очаги определенных органов и тканей. Для этих целей применялись различные лекарственные средства: «биоактивные капсулы» с применением

искусственных мембран липосом, капсулы из нейлона, магнитные микросферы [165]. Несмотря, на высокую эффективность целенаправленной доставки лекарственных препаратов в вышеуказанных носителях, при этом имеется и ряд недостатков, большинство из которых связаны с ограничениями по диапазону и количеству связанных лекарственных средств. Кроме того, возникают трудности, обусловленные токсичностью и иммуногенностью носителей, их малой доступностью и высокой стоимостью [165,с. 20-35].

Одной из ведущих тенденций, проявляющихся в современной медицине, является создание систем направленной доставки лекарственных препаратов в органы мишени [166,167]. Причиной к этому явилось то, что препарат, введенный в организм традиционными способами, распределяется в нем относительно равномерно связываясь с белками крови, проникая не только в органы-мишени, где он должен проявить свой терапевтический эффект, но и в другие органы, где действие препарата может носить негативный характер [168]. При этом лекарственное вещество достигает своих органов мишеней в концентрации, значительно меньшей по сравнению с необходимой терапевтической, что вынуждает использовать дозы, которые на один-два порядка превышают терапевтически необходимые для пациента [169].

В настоящее время широко применяются методы целенаправленной доставки лекарственных средств в органы и ткани, с использованием собственных форменных элементов крови организма, которые наиболее выгодны с точки зрения биологической совместимости. В качестве транспортных средств используются эритроциты, тромбоциты и лейкоциты [170-172]. Проведенные экспериментальные исследования показали, что включение химиотерапевтических препаратов в такие «транспортировщики» имеет ряд преимуществ, которые проявляются целенаправленной доставкой препаратов в определенные органы и ткани с созданием в них высокой терапевтической концентрации с пролонгированным действием [173,174]. При этом лекарственные средства, включенные в биологические «транспортные контейнеры», не связываются с белками крови; одновременно снижается их иммуногенность [175,176].

Среди форменных элементов наибольший интерес представляют эритроциты, которые являются естественными поставщиками кислорода и других необходимых веществ в печень и другие органы [171,с. 2664;177-179]. Эта специфичное свойство эритроцитов определяется свойством фагоцитирующих клеток печени фиксировать эритроциты [180]. Одним из способов включения в эритроциты лекарственных веществ является гипоосмотический гемолиз клеток, вызываемый путем помещения их в солевой раствор пониженной ионной силы [177,с. 144-146]. В результате воздействия солевого раствора в мембранах эритроцитов образуются несколько пор с диаметрами от 20 до 50 нм, через которые внутрь клетки проникают вещества, находящиеся в лизирующем растворе, замещая до одной трети общего объема клетки [181]. При восстановлении концентрации лизирующего раствора до изотонического, происходит восстановление целостности мембраны и

возвращение к исходному объему [182,183]. Данный метод гипоосмотического включения лекарственных препаратов в клетки крови является наиболее доступным для клинического применения. Впервые методика направленного транспорта (НТ) лекарственных средств с помощью «теней эритроцитов», полученных путем гипотонического гемолиза была описана Т.П. Самохиным с соавт. [184] и реализована Л.Е. Сипливой с соавт. [175,с. 48-50].

Использование в качестве переносчиков эритроцитов – носителей, сводит к минимуму риск инфицирования пациента. Важно то, что процесс разрушения эритроцитов – это естественный процесс и он не приводит к побочным эффектам. Относительно несложные методы их обработки позволяют получать эритроциты-носители, которые селективно захватываются органами ретикулоэндотелиальной [185-190].

В эритроциты могут быть включены антибиотики, ферменты, ДНК, вирусы [180,с.102;191-193]. Включенные в эритроцитарные оболочки антибиотики (гентамицин, амикацин) не только не оказывает иммуносупрессивное влияние, а наоборот, усиливают развитие иммунного ответа [194].

В связи с включением различных лекарственных препаратов в эритроцитарные тени появилась прекрасная возможность целенаправленного транспорта их в печеночную ткань, как одного из наиболее эффективных методов терапии при острых хирургических заболеваниях органов брюшной полости. Уже более 20 лет во многих клиниках Республики Казахстан успешно используются эритроцитарные фармаоциты в комплексном лечении острых хирургических заболеваний органов брюшной полости и гнойных заболеваний различной локализации [195,196].

Е.А.Тайгуловым изучены результаты применения эритроцитарных фармаоцитов (ЭФ) с различными антибиотиками в комплексном лечении больных острым холециститом старше 60 лет. Автором отмечена высокая эффективность метода, однако и указываются трудности ее использования в широкой клинической практике [197].

В исследованиях Т.П. Генинга и К.К. Мануилова при применении с целью направленного транспорта гентамицина эритроцитарных контейнеров, отмечалось существенные изменения распределения препарата по органам и тканям: накопление в печени, селезенке, почках [198]. Известны работы использования гентамицина, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, в комплексном лечении острого распространенного перитонита [199,200], механической желтухи [201], экспериментального хронического токсического гепатита, острого холецистопанкреатита [202], острого и хронического парапроктита [203], холангита [204].

По данным Жумадилова Д.Ш., применение эритроцитарных фармаоцитов в комплексном лечении больных острым панкреатитом и холецистопанкреатитом позволяет в 3,5 раза сократить срок купирования клиничко-лабораторных проявлений острого панкреатита и холецистопанкреатита, предупредить развитие воспалительных осложнений

заболеваний, улучшить качество обследования, предоперационной подготовки и планово- оперативного лечения больных. Транспорт эритроцитарных фармакоцитов позволяет создать высокую концентрацию препаратов в желчных путях. Концентрация гентамицина через 12 часов после транспорта в эритроцитарных телях, в 4,0 раза выше аналогичной при внутривенном введении, а канамицина – в 1,5 раза. Макроскопически в поджелудочной железе после лечения экспериментального панкреатита эритроцитарными фармакоцитами сохранялись признаки интерстиции, разобщение долек, но уменьшилась степень геморрагического пропитывания органов. При гистологическом изучении поджелудочной железы через 3 суток после лечения эритроцитарными фармакоцитами было выявлено снижение междолькового отека с незначительной очаговой воспалительной инфильтрацией интерстиции и уменьшение по масштабам очагов некроза [202,с.35-48].

При вышеперечисленных заболеваниях применялись эритроцитарные фармакоциты с гепатопротектором эссенциале, антигипоксантом мексидолом, регуляторным нейропептидом - даларгином. Во всех исследованиях получен достоверный клинико-лабораторный эффект разработанных методов целенаправленной транспортировки лекарственных средств, включенных в эритроцитарные тели.

Разработана, также, технология создания эритроцитарных фармакоцитов с антибиотиком рифампицином [205], ИЛ-2 человека (ронколейкином) [206-208]. При использовании ЭФ с ронколейкином в комплексном лечении больных острым холангитом содержание ИЛ-2 в желчи в 4,6 раза выше, чем при традиционной внутривенной инфузии препарата. Установлено, что иммунорегуляторный цитокиновый препарат ронколейкин при внутривенной инъекции указанного препарата в составе ЭФ концентрация его в печени через 16 часов в 3 раза выше, чем при обычном внутривенном введении; в селезенке соответственно выше в 2,7 раза [207,с. 44;209-211].

В исследованиях Балжанова Ж.М. применение эритроцитарных фармакоцитов с ронколейкином, по сравнению с традиционным лечением и внутривенным использованием, статистически значительно повышает содержание ИЛ-2 в желчи больных острым холангитом после декомпрессии желчных путей. По отдельным показателям иммунограмм, имеется ускоренная динамика регресса признаков вторичной иммунной недостаточности при включении в комплекс консервативной терапии после декомпрессии желчных путей у больных острым холангитом и ронколейкина в аутологичных эритроцитарных оболочках [211,с. 23-30].

Имеется исследование применения эритроцитарных фармакоцитов с ронколейкином при лечении пациентов с острым деструктивным панкреатитом, где получены данные об эффективности и имеющимся иммуномодулирующем эффекте этой категории больных с достоверным снижением основных клинических и иммунологических показателей в конце лечения [212,213].

В заключении данного литературного обзора, нужно отметить, что эффективность традиционных способов введения лекарственных средств, таких

как внутримышечное и внутривенное, при тяжелой хирургической патологии, в частности при развитии септических состояний различной этиологии, не в полной мере удовлетворяет запросы современной неотложной медицины.

Работ, посвященных применению способов целенаправленной доставки рекомбинантных цитокиновых препаратов, в частности Ронколейкина загруженных в различные транспортные системы, при развитии сепсиса нами не найдены.

Учитывая данное положение, на наш взгляд, в лечении больных с развитием хирургического сепсиса весьма актуальной проблемой является разработка способов и лечебных протоколов (схем) целенаправленной доставки цитокиновых препаратов непосредственно к органам мишеням для ускорения заживления и быстрого восстановления нарушенных функций органов.

В заключение настоящего краткого обзора литературы считаем возможным сделать ряд обобщающих заключений:

-во-первых, тяжелая иммунная дисфункция является предрасполагающим фактором развития хирургического сепсиса и во многом определяет его течение и исход;

-во-вторых, недостаточная продукция эндогенного ИЛ-2 - является существенным компонентом дисфункции иммунной системы при сепсисе;

-в третьих, при тяжелом сепсисе цитокиновый дисбаланс и несостоятельность иммунной системы организма принимают самое непосредственное участие в формировании и прогрессировании синдрома полиорганной недостаточности;

-в четвертых, использование генно-инженерных (рекомбинантных) цитокиновых препаратов – наиболее перспективный подход в оптимизации комплексного лечения сепсиса;

-пятое, рандомизированными, клинически контролируемые, многоцентровыми исследованиями доказано, что Ронколейкин® является эффективным средством комплексного этиопатогенетического лечения тяжелого сепсиса;

-шестое, клиническая эффективность Ронколейкина® определяется его выраженными детоксикационными и иммунокорригирующими свойствами;

-седьмое, учитывая многокомпонентность терапевтического действия Ронколейкина® (иммунокорригирующее, детоксикационное, стимуляция регенерации и репаративных процессов) имеется возможность оптимизации использования данного цитокинового препарата с целью повышения его иммуномодулирующего и органопротекторного эффектов в комплексном лечении тяжелого сепсиса;

-в этом плане весьма перспективным может оказаться применение цитокиновых препаратов, заключенных в аутологичные эритроцитарные оболочки – «эритроцитарные фармаоциты», клинико-лабораторная эффективность которых в комплексном лечении доказана при острых гнойных заболеваниях органов брюшной полости.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика больных

Для проведения научного исследования необходимо определить объект исследования. Сепсис – это общий инфекционный процесс, который возникает в результате проникновения и распространения возбудителя из первичного очага в кровь с генерализацией процесса на фоне сниженной иммунологической реактивности организма (вторичного иммунодефицита).

В 1991 году впервые было введено такое понятие, как «Синдром системного воспалительного ответа» - ССВО (Sistemic Inflammatory Response Syndrome - SIRS) — универсальный ответ организма на воздействие сильных раздражителей, среди которых инфекция, травмы, ожоги, оперативные вмешательства, радиационные поражения. Выделение данного синдрома связано с образованием и высвобождением в кровотоки биологически активных веществ (БАВ), влекущих за собой возникновение полиорганной недостаточности и критических состояний.

Хирургический сепсис – наиболее часто встречаемая среди всех гнойно-воспалительных заболеваний патология. Это обобщающее понятие, включающее в себя (Козлов В.К., 2008):

- *посттравматический сепсис*, который возникает в случаях генерализации инфекции у пострадавших от ранений и травм;
- *панкреатогенный сепсис* – как осложнение острого деструктивного панкреатита;
- *акушерско-гинекологический сепсис* – как осложнение родов и абортов;
- *общехирургический сепсис* – в том числе при выполнении операций на сердце и сосудах (*ангиогенный*), на органах брюшной полости (*абдоминальный*).

Клиническая часть работы выполнена в отделениях хирургии и реанимации «Городской больницы №1» г. Астаны и «Больницы скорой медицинской помощи» г. Актобе в период с 2013 – 2016 гг. Данные лечебные учреждения являются клиническими базами кафедр хирургии интернатуры АО «Медицинский университет Астана» и Западно-Казахстанского государственного медицинского университета имени Марата Оспанова.

За период с 2013 по 2016 гг. под наблюдением было 39 пациентов с установленным диагнозом: хирургический сепсис. Основными причинами сепсиса явились флегмоны, абсцессы различных областей и локализаций; осложнения острого деструктивного панкреатита в виде абдоминального панкреатогенного сепсиса; нагноения послеоперационных ран в виде фасциитов, гангрены стоп и кистей.

Диагноз сепсиса определялся по клиническим, лабораторным критериям и подтвержден положительными результатами посевов крови.

Всем больным раневым сепсисом экстренном порядке проводили операцию по вскрытию и дренированию первичного гнойного очага с последующим лечением в палатах интенсивной терапии хирургического

профиля. Больным панкреатогенным сепсисом срочные оперативные вмешательства производились при наличии стандартных показаний.

Для сравнительного изучения результатов лечения, все пациенты разделены на 2 группы (1-я контрольная и 2-я основная).

В 1-ю (контрольную) группу объединены 18 пациентов, которым после выполнения необходимых оперативных вмешательств, с санацией первичного гнойного очага, проводилась стандартная комплексная интенсивная терапия сепсиса, включающая внутривенное введение Ронколейкина®. Рекомбинантный цитокиновый препарат (rIL-2) назначался больным, согласно сопроводительной инструкции, в разовой дозе 500 тыс. ЕД, на курс 4-5 внутривенных инфузий с интервалом 24 часа, курсовая доза – 2,0-2,5 млн. ЕД.

Во 2-ю (основную) группу вошли 21 пациент, которым после необходимых операций, интенсивная комплексная терапия сепсиса дополнялась внутривенным введением препарата Ронколейкин® в составе аутологичных эритроцитарных оболочек (эритроцитарных фармакоцитов). Для приготовления последних использовали дозу в два раза ниже, чем в контрольной группе (250 тыс. ЕД). Схема назначения цитокинового препарата: ежедневно в течение 9-10 дней. Естественно, курсовая доза у пациентов данной группы была такой же, как и в контрольной группе – 2,25-2,5млн. ЕД (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение больных в зависимости от метода лечения сепсиса

Способы лечения	Количество больных	%
Традиционное внутривенное введение ронколейкина в дозе 500 000 ЕД, через день, курсовая доза – 2,0-2,5 млн. ЕД (контрольная группа)	18	42
Комплексная терапия сепсиса с применением ронколейкина в составе аутологичных эритроцитарных оболочек в дозе 250 000 ЕД, ежедневно, курсовая доза – 2,25-2,5 млн. ЕД (основная группа)	21	57
ВСЕГО	39	100

Распределение пациентов согласно принципам рандомизации в обеих сравниваемых группах, по возрасту, срокам госпитализации в стационар от начала заболевания, этиологии сепсиса представлены в таблицах (таблица 2,3).

Таблица 2 – Распределение больных по полу и возрасту

Возраст пациентов		Количество больных			
		Пол			
		Основная группа абс (%)		Контрольная группа абс (%)	
		Муж	Жен	Муж	Жен
Зрелый возраст	I период (21-35 лет)	6 (28,6)	0 (0)	2 (11,1)	1 (5,5)
	II период (36-60 лет)	3 (14,3)	4 (19,0)	4 (22,2)	6 (33,3)
Пожилой возраст (61 – 75 лет)		3 (14,3)	2 (9,5)	0 (0)	2 (11,1)
Старческий возраст (76-90 лет)		1 (4,8)	2 (9,5)	0(0)	3 (16,7)
Итого		13 (61,9)	8 (38,1)	6 (33,3)	12 (66,7)
		21 (100,0)		18 (100,0)	

В результате анализа по основным клинико-лабораторным и иммунологическим показателям, характеру сопутствующей патологии и т.п. пациенты основной и контрольной групп были вполне сопоставимы

Таблица 3 – Распределение больных в основной и контрольной группах по причинам развития сепсиса

Причины развития хирургического сепсиса	Количество больных					
	Основная группа		Контрольная группа		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Флегмона различной локализации	7	33,3	6	33,3	13	33,3
Влажная гангрена стопы	0	0	1	5,6	1	2,6
Абсцессы различной локализации	0	0	1	5,6	1	2,6
Раневая инфекция после операции	4	19,1	0	0	4	10,2
Панкреатогенный абдоминальный сепсис	10	47,6	10	55,5	20	51,3
Итого	21	100,0	18	100,0	39	100,0

Как видно из данных представленных в таблице 3, основной причиной возникновения сепсиса у больных двух сравниваемых групп явился острый панкреонекроз с развитием панкреатогенного абдоминального сепсиса у 51,3% пациентов, а также флегмоны различной локализации и этиологии 13 (33,3%) пациентов. Гораздо реже, причинами сепсиса были: раневые инфекции после операции (10,2%), где нагноение послеоперационной раны осложнялось развитием некротического фасциита, что требовало проведения дополнительных операции или расширенных перевязок с анестезиологическим пособием. Так же в обеих группах были пациенты с влажной гангреней стопы - 1 (2,6%) и абсцессом поясничной области - 1 (2,6%), причиной которого было нагноение посттравматической гематомы. В ходе интенсивного лечения у больных контрольной и основной сравниваемых групп проводился клинико-лабораторный мониторинг общего состояния больных, лабораторных показателей и основных иммунологических показателей периферической крови. При анализе сроков госпитализации выявлена поздняя обращаемость пациентов в стационар за необходимой медицинской помощью. До 24 часов от начала заболевания пациенты обеих групп, в стационар не обращались. До 72 часов выявлено всего 7 госпитализаций, что составило 37% от общего числа пациентов обеих групп. Свыше 72 часов госпитализирована в стационар большая часть пациентов - 12 (63%), что является одной из вероятных причин развития септического состояния и генерализации инфекции (таблица 4).

Таблица 4 – Сроки поступления пациентов в стационар от момента начала заболевания, в основной и контрольных группах

Группы	Сроки поступления в стационар						Всего	
	До 24 часов		До 72 часов		Свыше 72 часов		абс.	%
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
Основная	6	28,6	10	47,7	5	23,7	21	100,0
Контрольная	1	5,5	7	39	10	55,5	18	100,0
Итого:	7	18	17	43,6	15	38,4	39	100,0

В процессе лечения такой тяжелой патологии, как сепсис, важно учитывать наличие и характер сопутствующей патологии, что обусловлено возможным ухудшением функций жизненно важных органов и систем, что в конечном итоге может привести к летальному исходу пациента. Все это диктует необходимость тщательного обследования больных с целью выявления сопутствующих заболеваний и при необходимости, своевременной коррекции нарушения функций органов и систем. Частота и характер сопутствующих заболеваний у больных с развитием сепсиса различной этиологии представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Частота и характер сопутствующих заболеваний у больных сравниваемых групп (n=39)

Сопутствующие заболевания	Число больных	
	Основная группа (n =21) абс. (%)	Контрольная группа (n =18) абс. (%)
Патология дыхательной системы (пневмония, обострение бронхита)	8 (38,1)	5 (27,8)
Заболевания сердечно-сосудистой системы	7 (33,3)	7 (38,9)
Анемия различной степени тяжести	2 (9,6)	1 (5,5)
Сочетания 2-х заболеваний	3 (14,3)	2 (11,1)
Фоновое заболевание (сахарный диабет)	1 (4,7)	2 (11,1)

В основной группе у больных, которым применяли эритроцитарные фармакоциты с ронколейкином, сопутствующие заболевания выявлены у всех пациентов 21 (100%). В нозологической структуре преобладала патология со стороны дыхательной системы в виде пневмоний и обострений хронического бронхита - 8 (38,1%). Артериальная гипертензия высокой степени и заболевания сердечно-сосудистой системы выявлены у 7 (33,3%) пациентов основной группы. Анемия различной степени тяжести имела место у 2 (9,6%) пациентов. Сочетание двух заболеваний установлено у 3 (14,3%) пациентов, где артериальная гипертензия сочеталась с нарушением ритма сердца; и в одном случае фоном артериальной гипертензии был сахарный диабет.

В контрольной группе пациентов сопутствующая патология выявлена у 17 (94,4 %) пациентов: со стороны дыхательной системы в виде пневмонии - у 5 (27,8%), артериальная гипертензия высокой степени риска - у 7 (38,9%) пациентов и у одного пациента (5,5%) - анемия средней степени тяжести. При этом у 2 (11,1%) пациентов фоновым заболеванием, ухудшающим течение сепсиса, был сахарный диабет.

2.2 Оценка тяжести сепсиса

При проведении обследования и лечения больных с установленным диагнозом хирургического сепсиса различной этиологии, необходима объективная оценка тяжести состояния больного. Без этого невозможно определить клиническую эффективность проводимого лечения в основной и контрольной группах. Именно поэтому данные объективные методы комплексной оценки тяжести состояния хирургических больных являются неотъемлемой частью современных исследований в хирургии.

Все наблюдаемые больные обеих групп подвергались идентичному, комплексному, общеклиническому и лабораторным обследованиям при поступлении, а так же после комплексного лечения.

В комплекс обследования входил подробный сбор анамнеза жизни с учетом ранее перенесенных заболеваний, характер и особенности развития

настоящего заболевания, по поводу которого пациенты поступили в клинику. При объективном исследовании обращалось внимание так же на психоэмоциональный статус больного, состояние органов слуха и зрения. Проводилось комплексное обследование органов грудной клетки и брюшной полости. При этом особое внимание обращалось на состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем. При оценке тяжести состояния больных с развитием сепсиса была использована модифицированная шкала SAPS - Simplified Acute Physiological Score (Упрощенная шкала оценки острых функциональных изменений) – M-SAPS, которая используется для оценки тяжести состояния в прогнозировании исхода у данной категории больных. Она позволяет оценить тяжесть состояния в зависимости от выраженности СВР, выбрать тактику лечения и оперативного вмешательства, прогнозировать различные осложнения. Имеющиеся параметры шкал SAPS, позволяют диагностировать большинство системных нарушений возникающих у хирургических больных, возникающих при развитии сепсиса. При этом используется оценка таких параметров, как возраст, частота сердечных сокращений, систолического показателя артериального давления, суточные изменения температуры тела, ЧДД, ЛИИ, гематокрит, мочевины, лейкоциты крови, глюкоза крови, калий плазмы, общие симптомы перитонита, данные рентгенологического исследования, шкала. Оценка состояния по шкалам M-SAPS нами проводилась двукратно (в 1 –е и 10-е сутки нахождения в стационаре и после операции), одновременно в двух сравнительных группах, следуя принципам репрезентативности. Таким образом, как свидетельствуют представленные данные, сравниваемые группы больных по всем обще – клиническим и лабораторным показателям и параметрам были практически идентичными.

Таблица 6 – Оценка тяжести состояния больных с сепсисом по шкале M-SAPS (Соловьев И.Е., 2000)

Показатель	Баллы								
	4	3	2	1	0	1	2	3	4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Возраст					< 45	46-55	56-65	66-75	> 75
ЧСС в 1 мин.	> 180	140 - 179	11 0- 13 9		70-109		55-69	40-54	< 40
АД сист.(мм рт. ст.)	> 190		15 0- 18 9		80-149		55-79		< 55
Температура тела (°С)	> 41	39- 40, 9		38, 5- 38, 9	36,0- 38,4	34,0- 35,9	32,0- 33,9	30,0- 31,9	< 30,0

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ЧДД	> 50	35-40		25-34	12-24	10-11	6-9		< 6
ЛИИ					2,3-4	4,1-5	5,1	≥7,1	
ГЕМАТОКРИТ %	≥60		50 - 59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		≤20
Мочевина крови (ммоль/л)	> 55,0	36-54,9	29 - 35,9	7,5-28,9	3,5-7,4	< 3,5			
Лейкоцитоз (10 ³ /л)	> 40,0		20 - 39,9	15,0-19,9	3,0-14,9		1,0-2,9		< 1,0
Глюкоза крови (моль/л)	> 44,5	27,8-44,4		14,0-27,7	3,9-13,9		2,8-3,8	1,6-2,7	< 1,6
Калий плазмы (мэкв/л)	> 7,0	6,0-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3,0-3,4	2,5-2,9		< 2,5
Симптомы перитонита					нет		есть		
Рентгенологические данные					Нет или гиперпневматоз	Ед. уровни жидкости	Множественные чаши Клойбера		
Шкала Глазго					13-15	10-12	7-9	4-6	3

Итоговый суммарный балл записывался в карту наблюдения и позволял проводить балльную оценку тяжести состояния наблюдаемых больных (таблица 7).

Таблица 7 – Балльные параметры интерпретации шкал M-SAPS

Отсутствие сепсиса	0-4
Сепсис	5-8
Тяжелый сепсис	9-12
Септический шок	> 17

Для оценки степени распространенности инфекции определялась концентрация прокальцитонина (PCT) в сыворотке крови. Ввиду высокой чувствительности и специфичности данного лабораторного теста, его считают маркером системной инфекции [214,215]. Для определения PCT использовался полуколичественный метод иммунохроматографический экспресс метод (BRANMS PCT-Q).

У всех больных были изучены максимально возможные и доступные показатели иммунной системы.

Послеоперационной летальности в группе пациентов, в комплексном лечении которых применялся препарат Ронколейкин® внутривенно традиционным способом (контрольная группа), - 1 пациент (5,5%). Причиной смерти пациента контрольной группы послужили острая сердечно-сосудистая недостаточность и интоксикация. В основной группе летальных исходов не было.

2.3 Иммунологические методы исследования

Проводилось стандартное определение состояния иммунного статуса пациентов до начала иммунокоррекции (в 1-е сутки стационарного лечения) и по завершении ее - через 9-10 дней.

Для оценки состояния больных сепсисом, эффективности проводимого лечения и прогнозирования течения воспалительного процесса была изучена динамика показателей иммунной системы в обеих группах. Проводилась оценка основных показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета с использованием общепринятых методов иммуноферментного анализа (ИФА) в начале и после лечения в контрольной и основной группах.

Для оценки состояния клеточного звена иммунитета в периферической венозной крови определяли абсолютное и относительное содержание Т- и В-лимфоцитов (CD3+, CD20+) , а также их основных субпопуляций группы (CD0, CD4+, CD8+), а также вычислялся иммунорегуляторный индекс (ИРИ) - CD4+/ CD8+.

Гуморальное звено иммунной системы оценивалось по содержанию иммуноглобулинов трех основных изотипов (IgM, IgG, IgA).

Для оценки окислительного метаболизма циркулирующих НГ использовался тест восстановления нитросинего тетразолия - НСТ-тест с определением спонтанного и стимулированного вариантов, а также индекса стимуляции (ИС).

2.4 Статистическая обработка полученных данных

Статистический анализ полученных данных осуществлен на персональном компьютере с операционной системой Microsoft® Windows® 7.

Цифровой материал обработан методом вариационной статистики с определением средней арифметической (\bar{x}), средне-квадратического отклонения (σ), ошибки среднего арифметического (Sx). Полученный цифровой материал подвергнут общепринятой статистической обработке с

использованием t-критерия Стьюдента, а также непараметрических критериев χ^2 (хи-квадрат) и T-критерия Уайта [216].

2.5 Способ конструирования эритроцитарных фармакоцитов с ронколейкином и их применение в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом различной этиологии

Ронколейкин® включали в эритроцитарные оболочки методом гипоосмотического гемолиза по методике [217].

Для включения лекарственных препаратов в аутологичные эритроцитарные тени брали 5мл крови из вены в стерильную пробирку с гепарином (25ЕД/мл). После удаления плазмы крови эритроциты дважды отмывали в изотоническом растворе хлорида натрия путем центрифугирования при 3 000 об/мин. в течении 5 минут при 40⁰С. К осадку эритроцитов добавляли семикратный объем охлажденной до 0⁰С дистиллированной воды и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 25 минут при 40⁰С.

Для приготовления фармакоцитов использовалась центрифуга лабораторная высокоскоростная настольная SigMA 2-6 E (производитель – Германия 2011г.) (рисунок 1).



Рисунок 1 – Центрифуга лабораторная высокоскоростная настольная SigMA 2-6 E (производитель – Германия 2011г.)

К полученным теням эритроцитов добавляли семикратный объем препарата, растворенного в охлажденной до 0⁰С дистиллированной воде. Взвесь инкубировали в течении 20 минут при температуре 40⁰ С (рисунок 2).



Рисунок 2 – Отмывание эритроцитов в изотоническом растворе хлорида натрия путем центрифугирования при 3000 об/мин. в течение 5 минут при 40 С⁰

Затем добавляли 1/9 объема 9% раствора хлорида натрия для восстановления целостности эритроцитарных мембраны и инкубировали в течение 30 минут при температуре 37⁰ С (рисунок 3).



Рисунок 3 – Последний этап, конструирования аутологичных фармакоцитов, фиксация препарата в оболочках эритроцитов

3 КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ФАРМАКОЦИТОВ С РОНКОЛЕЙКИНОМ® (rIL-2) В КОМПЛЕКСНОЙ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО (РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ)

3.1 Традиционное внутривенное введение Ронколейкина® в комплексном лечении хирургического сепсиса

Большинство хирургов, реаниматологов и клинических иммунологов России и стран СНГ единодушны в оценке клинико-иммунологической эффективности Ронколейкина® при лечении гнойных хирургических заболеваний и сепсиса. Этому вопросу посвящено значительное количество рандомизированных многоцентровых исследований, основанных на большом клиническом материале. Все авторы отмечают высокий иммунокорректирующий и детоксикационный эффекты Ронколейкина®, а также способность стимулировать регенерацию и репаративные процессы. Хотя существуют различные рекомендации по практическому использованию данного рекомбинантного цитокинового препарата, касающиеся разовых/суточных и курсовых доз, а также конкретных лечебных схем применения rIL-2 (кратность введения, длительность перерывов между ними и продолжительность курса). В этой связи, предлагаем собственный опыт применения различных видов цитокинотерапии с целью улучшения комплексной интенсивной терапии в комплексном лечении хирургического сепсиса.

Целью данного раздела диссертационной работы является оценка клинико-иммунологической эффективности применения различных методов цитокинотерапии Ронколейкином® в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом. Для реализации избранной цели были определены следующие конкретные задачи:

-исследовать динамику клиническо-лабораторных и иммунологических показателей у больных хирургическим сепсисом при использовании в комплексной интенсивной терапии цитокинового препарата Ронколейкина® по традиционной схеме (по 500 тыс. ЕД 4-5 раз через 24-48 часов; курсовая доза 2,0-2,5 млн ЕД);

-изучить клиническо-лабораторную и иммунологическую эффективность Ронколейкина®, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки (по 250 тыс. ЕД ежедневно; курсовая доза 2,25-2,5 млн. ЕД) в комплексной интенсивной терапии больных хирургическим сепсисом;

-провести сравнительный анализ иммунокорректирующего, детоксикационного и гепатопротекторного эффектов rIL-2 у больных хирургическим сепсисом при применении его традиционным способом и включенным в эритроцитарные фармакоциты.

Проводимое исследование в условиях стационара было многокомпонентным и проводилось после добровольного согласия пациентов

или их ближайших родственников с заполнением соответствующих документов.

Первую группу составили 18 пациентов с установленным диагнозом хирургического сепсиса различной этиологии, в комплексной интенсивной терапии которых назначался Ронколейкин®. Препарат вводился больным внутривенно с первого дня стационарного лечения в суммарной дозе 2,0-2,5 млн. ЕД 4-5 раз через 24-48 часов; курсовая доза 2,0-2,5 млн ЕД.

Вторую группу составили пациенты (21 пациент), которые получали Ронколейкин®, включенный в состав эритроцитарных фармакоцитов по 250 тыс. ЕД ежедневно; курсовая доза 2,25-2,5 млн. ЕД.

Несмотря на проводимые современные лабораторно-инструментальные методы исследования, основным критерием оценки остается анализ клинической картины. При этом выявлено, что степень выраженности клинической картины в контрольной и основной группах на 1-е сутки нахождения пациентов в стационаре, т.е. перед началом цитокинотерапии, оказалась сопоставимой.

Были изучены такие показатели клинического течения заболевания, как: температура, пульс, частота дыхания, сроки восстановления перистальтики кишечника и появление самостоятельного стула в послеоперационном периоде и восстановление стула (у пациентов панкреатогенным сепсисом).

Степень тяжести эндотоксикоза оценивалась по бальной шкале M-SAPS, величине ЛИИ и уровню прокальцитонина в сыворотке крови.

Кроме того, у больных контрольной и основной групп исследовались основные иммунологические показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета периферической крови, а также окислительный метаболизм нейтрофильных гранулоцитов (НСТ-тест) вначале цитокинотерапии rIL-2 и по завершении ее (9-10 сутки).

3.1.1 Клинико-лабораторная и иммунокорректирующая эффективность Ронколейкина® при традиционном внутривенном его применении (контрольная группа)

В контрольную группу вошли 18 пациентов с хирургическим сепсисом, находившихся на стационарном лечении в хирургическом отделении ГККП «Первая городская больница» и ГККП на ПХВ «Больница скорой медицинской помощи» г. Актобе с 2013 года по 2016 годы.

Основными критериями включения больных в исследуемую группу являлся установленный диагноз хирургический сепсис различной этиологии, подтвержденный клинически, лабораторно и инструментально. Средний возраст больных составил $57,4 \pm 1,8$ лет. Среди больных преобладали лица женского пола (81,7%).

Больные с установленным сепсисом предъявляли жалобы на общую слабость, утомляемость, боли в правом подреберье и эпигастрии, тошноту, сердцебиение, повышение температуры тела и ознобы. При объективном осмотре состояние больных средней тяжести и тяжелое.

При поступлении всем больным произведены общеклинические и биохимические анализы крови. В общем анализе крови у больных с сепсисом выявлены характерные для гнойно-воспалительного процесса изменения: лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, ускоренное СОЭ, токсическая зернистость нейтрофилов.

При оценке общего состояния больных сепсисом особое внимание уделялось динамике основных признаков синдрома системной воспалительной реакции (systemic inflammatory Response syndrome – SIRS).

Одной из резолюций Чикагской Согласительной Конференции Американского колледжа пульмонологов и общества медицины критических состояний (American Colledge Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference, 1991) была рекомендация обязательного использования бальной системы для оценки тяжести больного сепсисом. Для этих целей нами применялась оценочная бальная шкала M-SAPS (Simplified Acute Physiological Score).

В первую очередь, эффективность интенсивной терапии больных хирургическим сепсисом с применением Ронколейкина® оценивалась по степени проявления основных симптомов Синдрома Системной Воспалительной Реакции (SIRS) перед началом лечения (1-е сутки нахождения в стационаре) по завершении его (9-10-е сутки) (таблица 8). Напоминаем, что больным данной группы (контрольной) цитокиновый препарат вводился внутривенно, согласно прилагаемой инструкции.

Показатели гемограммы больных контрольной группы в начале и конце цитокинотерапии (1-е и 10-е сутки) представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Основные показатели SIRS вначале цитокинотерапии и по завершении ее ($\bar{x} \pm s$)

Показатели SIRS	Сроки наблюдения	
	1-е сутки	9-10-е сутки
Температура тела	37,64±0,13	37,29±0,11
ЧСС в 1 мин.	109,2±2,6	106,4±3,03
ЧД в 1 мин.	17,53±0,33	17,18±0,28
Лейкоциты в 1 мкл. ($\times 10^9/\text{л}$)	13,89 ± 1,3	12,5 ± 1,4

Как следует из данных таблицы 8, после проведенной интенсивной терапии с курсом традиционной цитокинотерапии rIL-2 статистически достоверных изменений количественных показателей основных признаков системного воспалительного ответа не произошло ($p \geq 0,05$). Температура тела оставалась на субфебрильных цифрах, сохранялась выраженная тахикардия и высокий лейкоцитоз.

Таблица 9 – Показатели гемограммы больных контрольной группы в 1-е и 10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
Гемоглобин (г/л)	муж. – 130-160 жен. – 120-140	118 ± 5,912	101,7 ± 4,3**
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	муж. – 4,0-5,1 жен. – 3,7-4,7	5,25 ± 0,13	4,85 ± 0,2
Лейкоциты ($\times 10^9/л$)	4,0-9,0	13,89 ± 1,3	12,5 ± 1,4
Лимфоциты (%)	абс.пок. 1,0- 4,8* $10^9/л$ отн.пок. 19- 37%	26,58 ± 2,9	35,78 ± 1,79**
СОЭ (мм/ч)	муж. – 1-10 жен. – 2-15	25,50 ± 2,5	30,22 ± 3,71
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Как показано в таблице 9, по завершению цитокинотерапии гIL-2 низкий уровень гемоглобина крови не только не возрос, а наоборот, достоверно ($p \leq 0,01$) снизился на 16% (рисунок 4).

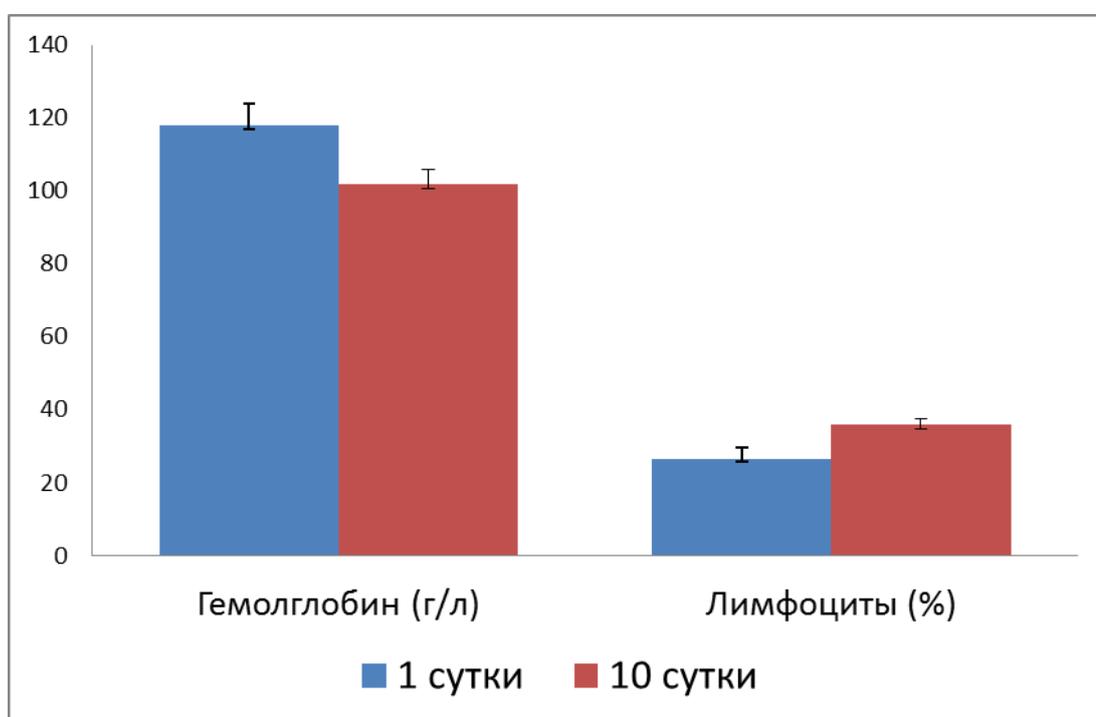


Рисунок 4 – Показатели гемограммы больных контрольной группы в 1 и 10 сутки наблюдения

Вероятно, это есть результат способности данного лимфокина ингибировать эритроидную ростковую функцию. Число эритроцитов в 1 мкл. в

крови осталось практически на том же уровне ($p \geq 0,05$), т.е. в пределах нормы. Высокая СОЭ не только не снизилась, а, наоборот, увеличилось почти в 1,2 раза ($p \geq 0,05$). Таким образом, большая часть показателей гемограммы остались практически на том же уровне, т.е. достоверно не отличались от таковых, имевших место на день начала применения Ронколейкина® ($p \geq 0,05$).

Для оценки иммунного статуса больных контрольной группы были исследованы количественные показатели из венозной крови лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD4+), Т-супрессоров (CD8+), В-лимфоцитов (CD20+), иммунорегуляторный индекс - ИРИ (CD4+/CD8+), концентрация IgA, IgM, IgG; НСТ-теста (спонтанного и стимулированного вариантов и индекса стимуляции – ИС) (таблицы 10-12).

Таблица 10 – Показатели клеточного звена иммунитета контрольной группы ($\bar{x} \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,0-9,0	13,89 \pm 1,3	12,5 \pm 1,4
Лимфоциты	%	19-37	35,78 \pm 1,79**
	абс.	1,0-4,8	3,55 \pm 1,7
CD 3+- Т-лимфоциты,	%	40-60	61,50 \pm 2,73
	абс.	1,1-1,7	2,76 \pm 0,32*
CD4+- Т-хелперы,	%	30-50	43,06 \pm 1,905
	абс.	0,4-1,1	2,322 \pm 0,22*
CD8+- Т-супрессоры,	%	10-20	21,83 \pm 1,78*
	абс.	0,3-0,7	0,68 \pm 0,123*
CD20+- В-лимфоциты,	%	19-37	21,11 \pm 4,04
	абс.	0,19-0,38	0,253 \pm 0,03***
CD 0-лимфоциты,	%	4-50	21,0 \pm 1,84
	абс.	0,03-1,58	0,89 \pm 0,19
Имунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+)	2,5-4,0	0,93 \pm 0,18	0,91 \pm 0,09
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Анализ лабораторных методов исследования показал, что исходные иммунологические показатели сыворотке крови (клеточное звено иммунитета) у больных с сепсисом показали наличие иммунной дисфункций, которая, однако, на фоне стандартной иммуностимулирующей терапии Ронколейкином®, по некоторым показателям имела положительную динамику (таблица 10).

Относительное количество лимфоцитов статистически значимо ($p \leq 0,01$) возросло в 1,3 раза (рисунок 5), тогда как абсолютное их число достоверно не изменилось ($p \geq 0,05$). Достоверное увеличение относительного количества лимфоцитов подтверждает способность ИЛ-2 повышать процессы пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов.

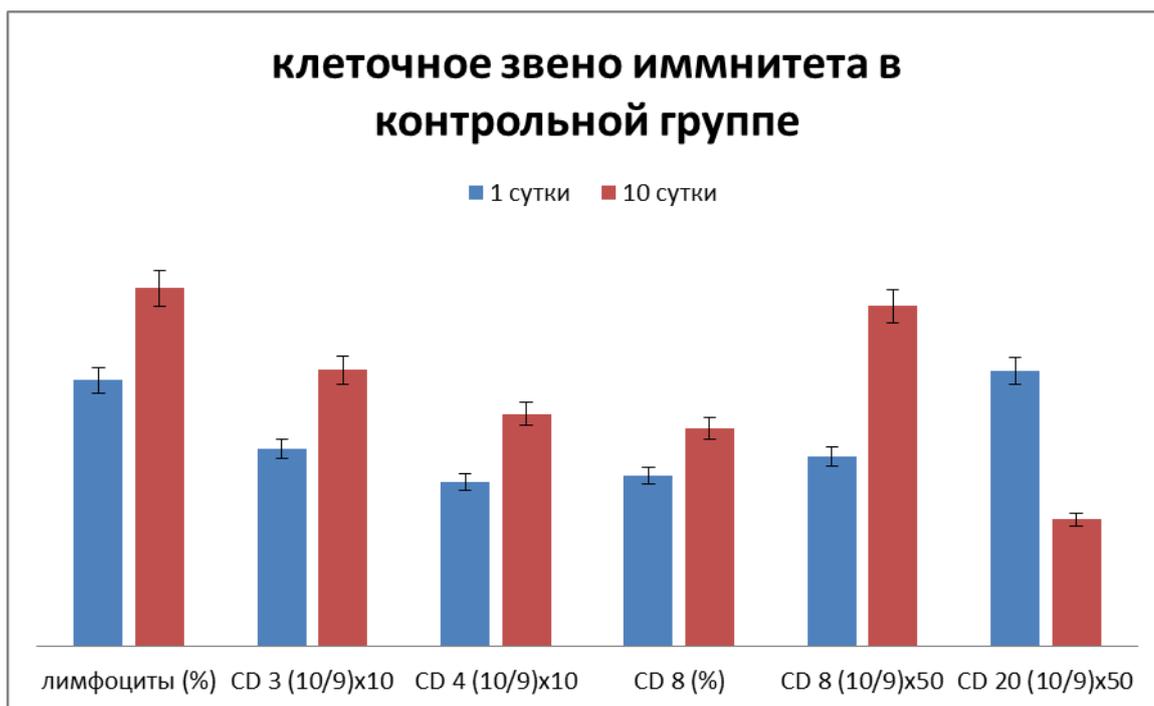


Рисунок 5 – Показатели клеточного звена иммунитета контрольной группы ($\bar{x} \pm s$)

Количество 0-лимфоцитов (абс. и относит.) осталось практически на том же уровне и находилось в пределах размаха нормальных значений; то же самое касается и ИРИ ($p \geq 0,05$).

Однако имеется достоверное увеличение в 1,4 раза абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3+) ($p \leq 0,05$) и Т-хелперов (CD4+) ($p \leq 0,01$). Хотя абсолютные значения количества этих клеток статистически значимо не изменились. Как абсолютное, так и относительное число CD4+-лимфоцитов превышала норму (рисунок 5).

Статистически значимо ($p \leq 0,05$) увеличилось относительное и абсолютное количество Т-супрессоров (CD8+) в 1,2 раза и в 1,8 раз, соответственно. При этом относительное число этих клеток превышало нормальные значения, а относительное было в пределах нормы. Здесь проявляется способность IL-2 индуцировать пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов и их субпопуляций (рисунок 5).

Абсолютное число В-лимфоцитов также статистически значимо возросло более чем в два раза ($p \leq 0,001$) до нормальных значений. Относительное их количество возросло статистически не достоверно и было так же в пределах нормы ($p \leq 0,05$). Данный факт имеет место, несмотря на то, Ронколейкин® не оказывает стимулирующего действия на пролиферацию В-лимфоцитов, но при этом повышает синтез иммуноглобулинов плазматическими клетками (рисунок 5).

Подтверждением вышесказанному является статистически достоверное ($p \leq 0,001$) двукратное повышение концентрации в крови IgM после проведенной цитокинотерапии Ронколейкином® (таблица 11).

Таблица 11 – Показатели гуморального звена иммунитета в контрольной группе сравнения на 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
Ig A, г/л	0,3-4,0	1,96±0,77	1,93±0,68
Ig M, г/л	0,3-3,0	0,63 ± 0,08	1,26 ± 0,24*
Ig G, г/л	6,0-15,0	13,02 ± 1,65	14,52 ± 1,63
ЦИК, у.е.	41-85	54,33±6,62	55,11±6,58
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Хотя содержание в крови IgG и IgA, как и ЦИК статистически значимо не изменились ($p \geq 0,05$). Все указанные количественные показатели были в пределах нормальных значений (рисунок 6).

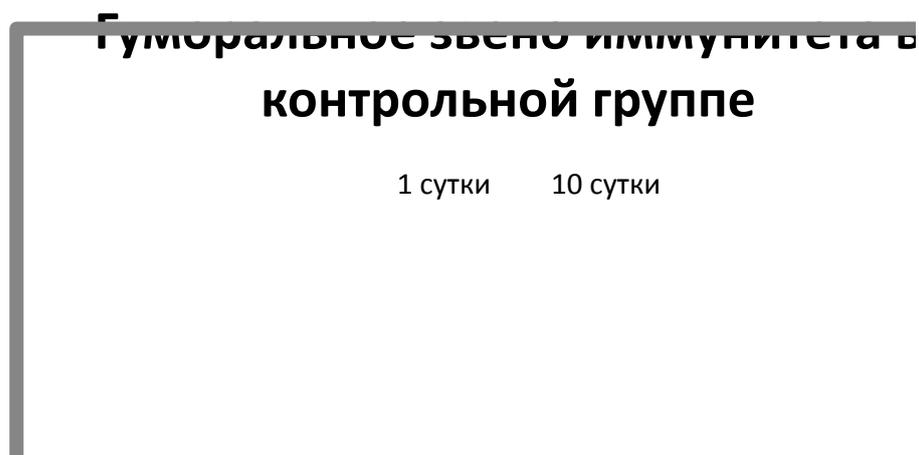


Рисунок 6 – Показатели гуморального звена иммунитета в контрольной группе сравнения на 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Состояние факторов неспецифической резистентности характеризовалась повышением кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов периферической крови (по данным НСТ–теста). Так, по завершении цитокинотерапии $rIL-2$ величина спонтанного НСТ-теста (НСТ сп.) статистически достоверно ($p \leq 0,01$) увеличилась почти в 1,5 раза, стимулированного варианта (НСТ ст.) – в 1,8 раза ($p \leq 0,001$) (таблица 12).

Таблица 12 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов пациентов контрольной группы ($\bar{x} \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
НСТ-тест спонтанный, %	5-10	17,1 ± 1,37	24,61 ± 2,53**
НСТ тест индуцированный, %	7-21	22,83 ± 3,2	40,28 ± 3,8***
Индекс стимуляции, %	≥0,5	0,28 ± 0,03	0,58 ± 0,06***
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

А индекс стимуляции (ИС), характеризующий резервные возможности микрофагов, с высокой степенью статистической значимости ($p \leq 0,001$) возрос более, чем в 2 раза. Здесь, мы имеем подтверждение того, что IL-2 стимулирует функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ), поскольку кислородзависимый метаболизм этих клеток прямо коррелирует с их фагоцитарной активностью (рисунок 7).

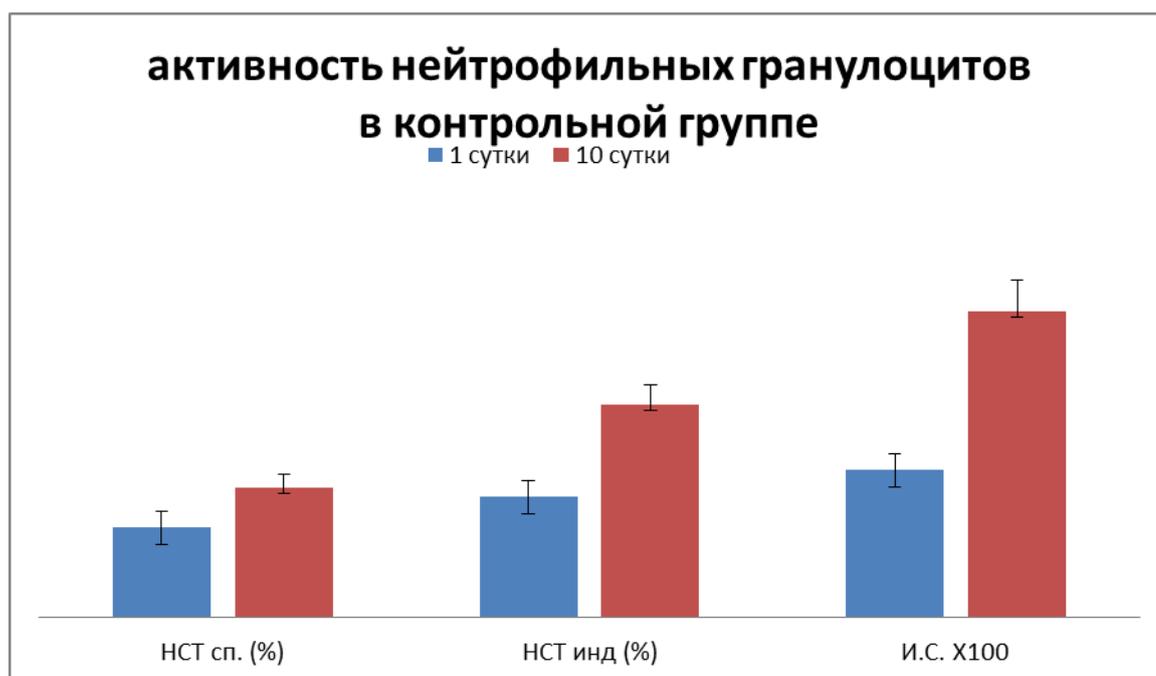


Рисунок 7 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов пациентов контрольной группы ($\bar{x} \pm s$)

В целом резюмируя показатели гемограммы и иммунограмм у пациентов в контрольной группе хочется отметить наличие положительной динамики от применения ронколейкина по стандартной методике, что доказывается достоверное увеличением количества Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций, содержания IgM в крови и показателей функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов, по данным НСТ-теста.

Патологические нарушения, развивающиеся при сепсисе, приводят к развитию функциональной недостаточности внутренних органов. Наиболее ярко проявляется картина печеночной и почечной недостаточности. Поэтому одним из важных критериев оценки тяжелого сепсиса было исследование динамики показателей, характеризующих функциональное состояние печени: содержание общего белка, билирубина и активности гепатоспецифических ферментов (аланинаминотрансферазы - АЛТ и аспартатаминотрансферазы – АСТ) в сыворотке крови. Общеизвестными биохимическими маркерами дисфункции печени являются – уровень билирубина и активность трансаминаз (таблица 13).

Таблица 13 – Показатели биохимического анализа крови у больных с сепсисом, в контрольной сравнительной группе, 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	норма	Контрольная группа (n =18)	
		1-е сутки	10-е сутки
Общий билирубин (мкмоль/л)	8,6-20,0	37,06±6,61	1,2 - 155,0
АЛТ (U/л)	муж. – до 45 жен. - до 34	0,28 - 484,0	0,28 - 230,0
АСТ (U/л)	муж. – до 41 жен. – до 31	0,38 - 308,0	0,21 - 513,0
Диастаза (U/л)	10-124	0,38 - 1020,0	6,0 - 130,0
Общий белок (г /л)	64-84	63,22 ± 2,6	58,99 ± 2,4
Глюкоза (ммоль/л)	3,89-6,38	6,63±0,62	6,61±0,51
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Как видно из данных таблицы 13, в виду относительно малого числа наблюдений и большому различию по индивидуальным показателям средние арифметические значения не могут быть репрезентативными ($\sigma \geq x$). В таких случаях в соответствующих графах вносится не цифровое значение ($x \pm s$), а лимит (lim.) или размах вариации (R), т.е. $X_{\max} - X_{\min}$. Это касается всех показателей, кроме содержания общего белка глюкозы и исходного уровня общего билирубина. Для сравнения цифровых фактических данных были использованы непараметрические критерии. Различия показателей перед началом цитокинотерапии (1-е сутки) и по завершении ее (10-е сутки) оценивались с помощью Т-критерия Уайта. Для сравнения же числа пациентов

основной и контрольной групп, у которых исследуемые биохимические показатели после курса терапии Ронколейкином® восстанавливались до нормальных значений, применялся непараметрический метод χ^2 (хи-квадрат).

При оценки концентраций в крови АЛТ, АСТ и амилазы до и после цитокинотерапии каких-либо статистически значимых различий ни по фактическим цифровым характеристикам, ни по числу случаев их нормализации статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p \geq 0,05$).

Содержание в крови общего белка в начале и конце цитокинотерапии также статистически значимо не различалось ($p \geq 0,05$).

Что касается уровня общего билирубина в сыворотке крови, то количественных достоверных различий (по Т-критерию Уайта) не установлено ($p \geq 0,05$). Однако если перед началом использования rIL-2 гипербилирубинемия имела место у 8 из 18 пациентов (44,4%), то после курса это регистрировалась всего у 2-х больных из тех же 18 (11,1%). То есть, согласно оценки по методу χ^2 , данное различие статистически достоверно ($p \leq 0,05$), что косвенно свидетельствует о существенном снижении гипербилирубинемии.

Для оценки распространенности инфекционного процесса, степени эндотоксикоза и тяжести общего состояния больных сепсисом использовалась бальная оценка по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрация прокальцитонина в сыворотке крови (таблица 14).

Таблица 14 – Показатели бальной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови ($x \pm s$)

Показатели	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
M-SAPS (баллы)	0-4	8,53±0,97	8,0±0,62
ЛИИ, у.ед.	0,6-1,6	3,73 ± 0,09	3,83 ± 0,11
Прокальцитонин (нг/мл)	до 0,5	1,41±0,12	1,07±0,14
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Как следует из данных таблицы 14, после проведенного 10-дневного курса интенсивной терапии с включением Ронколейкина® количество баллов по шкале осталось практически на исходном уровне, по-прежнему в два раза превышая норму. Величина ЛИИ осталась без изменений, почти в 2,5 раза превышая верхнюю границу нормальных значений. Уровень прокальцитонина в крови недостоверно уменьшился в 1,3 раза ($p \geq 0,05$), тем не менее оставаясь более чем в два раза выше нормы.

Средние сроки стационарного лечения в данной группе больных составили 24,25±1,6 день. Умер один больной (5,5%).

3.1.2 Клинико-лабораторная и иммунокорректирующая эффективность Ронколейкина® при использовании его в составе эритроцитарных фармакоцитов в комплексной терапии хирургического сепсиса (основная группа)

Как было указано выше, вторую группу составили пациенты (21 пациент), которые получали Ронколейкин®, включенный в состав эритроцитарных фармакоцитов, по 250 тыс. ЕД ежедневно; курсовая доза 2,25-2,5 млн. ЕД.

Таблица 15 – Основные показатели SIRS вначале цитокинотерапии и по завершении ее ($\bar{x} \pm s$)

Показатели SIRS	Сроки наблюдения	
	1-е сутки	9-10-е сутки
Температура тела	37,79±0,26	36,57±0,13***
ЧСС в 1 мин.	114,36±2,94	94,36±2,3***
ЧД в 1 мин.	19,55±0,55	17,27±0,54**
Лейкоциты в 1 мкл. ($\times 10^9/\text{л}$)	14,15 ± 1,1	9,3 ± 0,86***
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$		

Из данных таблицы 15 следует, что применение в комплексной интенсивной терапии больных хирургическим сепсисом Ронколейкина®, включенного в состав эритроцитарных фармакоцитов, сопровождалось достоверными изменениями основных показателей системного воспалительного ответа. Так, статистически значимо у больных снижалась температура тела ($p \leq 0,001$), ЧСС ($p \leq 0,001$) и ЧД ($p \leq 0,01$). Высокий лейкоцитоз достоверно ($p \leq 0,001$) снизился более чем в 1,5 раза и практически сравнялся с верхним пределом нормальных значений (рисунок 8).

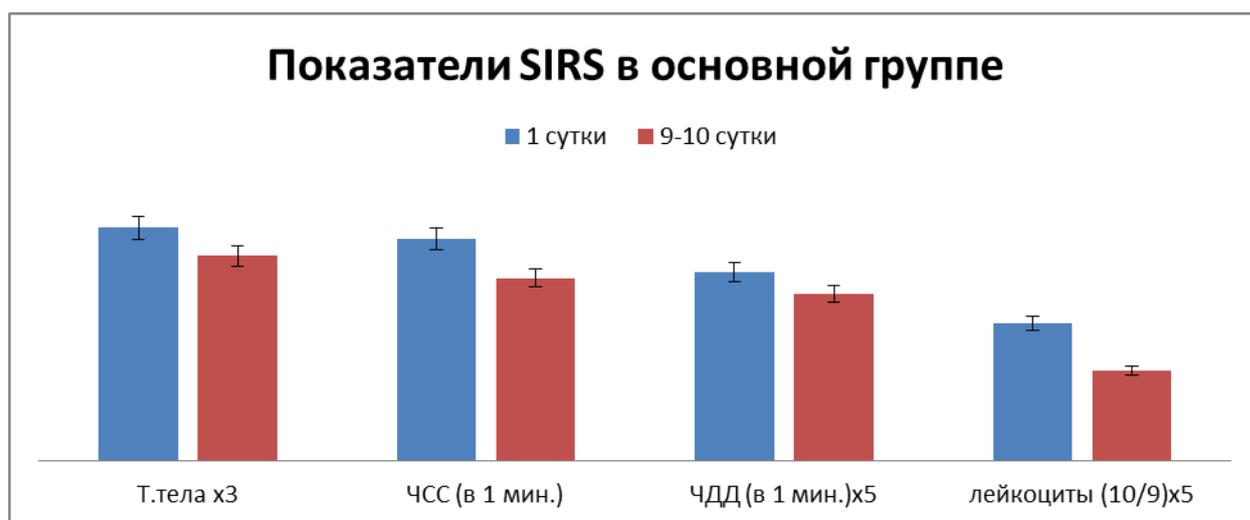


Рисунок 8 – Основные показатели SIRS вначале цитокинотерапии и по завершении ее ($\bar{x} \pm s$)

Показатели общего анализа крови у больных основной группы перед началом цитокинотерапии Ронколейкином® (1-е сутки наблюдения) и по завершении ее (9-10 сутки) представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Показатели общего анализа крови у больных основной группы на 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	9-10-е сутки
Гемоглобин (гр/л)	муж. – 130-160 жен. – 120-140	129,33 ± 5,26	111,81 ± 4,39 **
Эритроциты ($x10^{12}/л$)	муж. – 4,0-5,1 жен. – 3,7-4,7	3,28±0,17	3,62±0,15
Лейкоциты ($x10^9/л$)	4,0-9,0	14,15 ± 1,1	9,3 ± 0,86***
СОЭ (мм/ч)	муж. – 1-10 жен. – 2-15	28,24 ± 3,57	20,81 ± 3,37
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Как следует из данных таблицы 16, по окончании цитокинотерапии гИЛ-2, включенным в аутологичные эритроцитарные оболочки, показатель гемоглобина был в 1,2 раза статистически достоверно ($p \leq 0,01$) ниже, чем исходный. Число эритроцитов осталось прежним ($p \geq 0,05$). То есть, имелась легкой степени анемия, причина которой была объяснена выше.

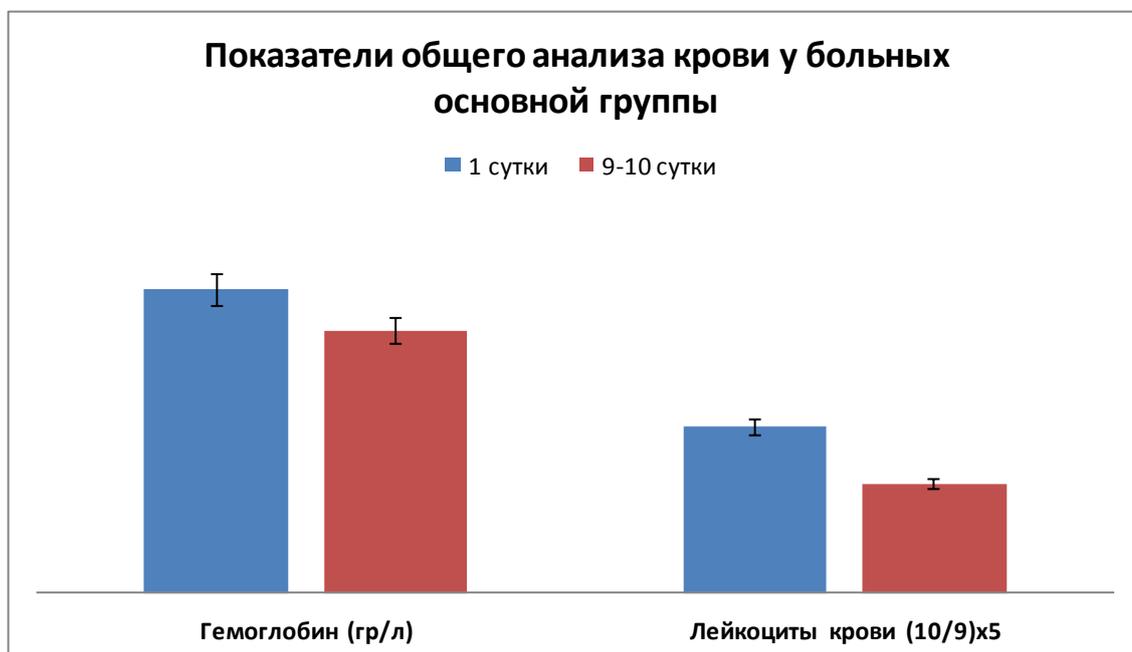


Рисунок 9 - Показатели общего анализа крови у больных основной группы на 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

СОЭ недостоверно снизилось почти в 1,4 раза ($p \geq 0,05$), тем не менее, оставаясь повышенным (рисунок 9).

Имеются также определенные сдвиги в иммунограмме у больных рассматриваемой группы (таблица 17). Относительное количество лимфоцитов статистически не значимо возросло более, чем в 1,2 раза, а абсолютное их число практически осталось на том же уровне ($p \geq 0,05$). Оба показателя были в пределах размаха нормальных показателей.

Относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов (CD3+) и Т-хелперов (CD4+) статистически значимо не изменилось и соответствует нормальным значениям ($p \geq 0,05$).

Однако в 1,3 раза достоверно возросло относительное количество субпопуляции лимфоцитов с условно супрессорно-цитотоксическим фенотипом (CD8+), хотя абсолютное их число осталось практически неизменным ($p \geq 0,05$). Оба показателя находятся в пределах нормальных значений (рисунок 10).

Более чем в 1,5 раза достоверно ($p \leq 0,05$) увеличилось относительное число В-лимфоцитов (CD20+), а абсолютное их число, несмотря на полуторное увеличение, изменилось статистически не достоверно ($p \geq 0,05$) (рисунок 10). Оба показателя так же находятся в пределах размаха нормальных значений.

Таблица 17 – Показатели клеточного звена иммунитета основной группы ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,0-9,0	14,15 \pm 1,1	9,3 \pm 0,86***
лимфоциты,	%	19-37	19,57 \pm 1,77
	абс.	1,0-4,8	1,81 \pm 0,31
CD3+- Т-лимфоциты,	%	40-60	55,48 \pm 1,92
	абс.	1,1-1,7	1,28 \pm 0,19
CD4+- Т-хелперы,	%	30-50	36,14 \pm 1,36
	абс.	0,4-1,1	0,83 \pm 0,1
CD8+- Т-супрессоры,	%	10-20	16,57 \pm 1,04
	абс.	0,3-0,7	0,30 \pm 0,04
CD20+- В-лимфоциты,	%	19-37	14,3 \pm 1,25
	абс.	0,19-0,38	0,21 \pm 0,04
CD 0-лимфоциты	%	4-50	19,62 \pm 1,59
	абс.	0,03-1,58	0,36 \pm 0,06
ИРИ CD4+/CD8+	2,5-4,0	1,76 \pm 0,12	2,24 \pm 0,14**
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Абсолютное и относительное число клеток с фенотипом (CD0) осталось на том же уровне ($p \geq 0,05$) .

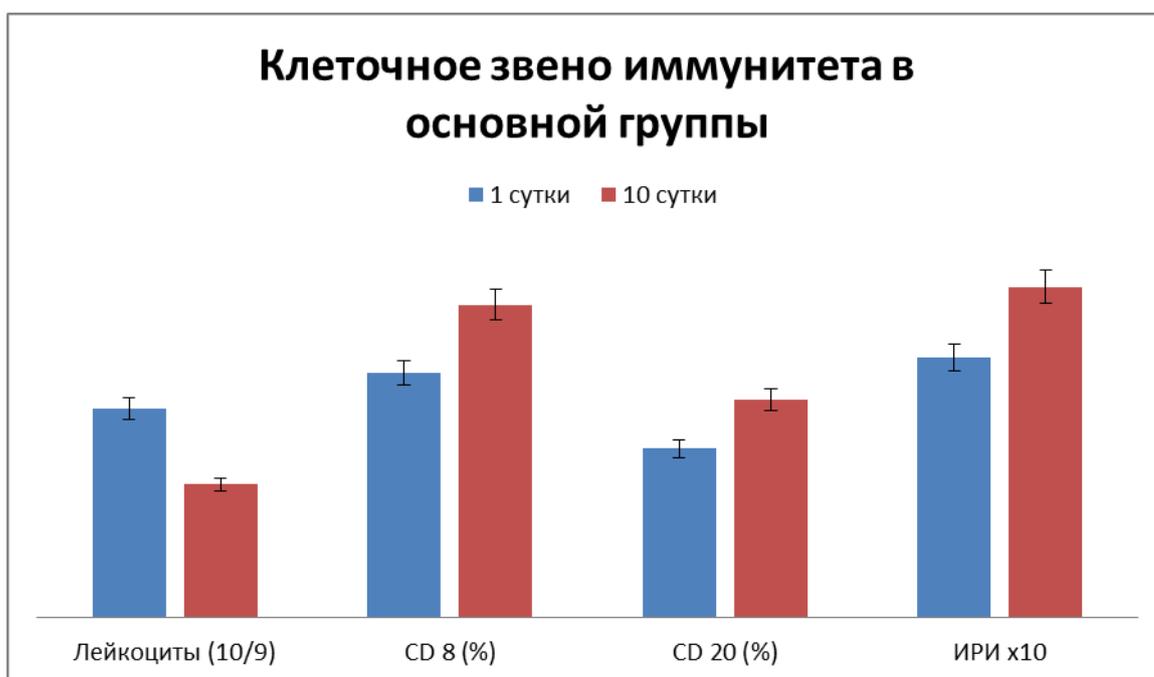


Рисунок 10 – Показатели клеточного звена иммунитета основной группы ($\bar{x} \pm s$)

Остальные исследуемые количественные показатели (абсолютные и относительные) клеточного звена иммунитета статистически значимых изменений не претерпели.

ИРИ (CD4+/CD8+) статистически значимо ($p \leq 0,01$) увеличился в 1,3 раза и почти сравнялся с нижним пределом нормальных значений (рисунок 10).

Что касается показателей гуморального звена иммунитета у больных основной группы (таблица 18), то здесь так же, как и в контрольной группе, в 2,3 раза возросло содержание в сыворотке крови больных Ig M ($p \leq 0,01$).

Таблица 18 – Показатели гуморального звена иммунитета в основной группе сравнения на 1 и 10 сутки наблюдения ($\bar{x} \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
Ig A, г/л	0,3-4,0	1,42±0,77	1,51±0,68
Ig M, г/л	0,3-3,0	0,57 ± 0,06	1,29 ± 0,21 **
Ig G, г/л	6,0-15,0	5,39 ± 1,1	6,66 ± 1,52
ЦИК, у.е.	41-85	34,82 ± 3,55	22,55 ± 4,16*
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

А концентрация иммуноглобулинов других изотипов (Ig A и Ig G) осталась прежней ($p \geq 0,05$). Концентрация ЦИК статистически значимо снизилась более чем в 1,5 раза ($p \leq 0,05$) (рисунок 11).

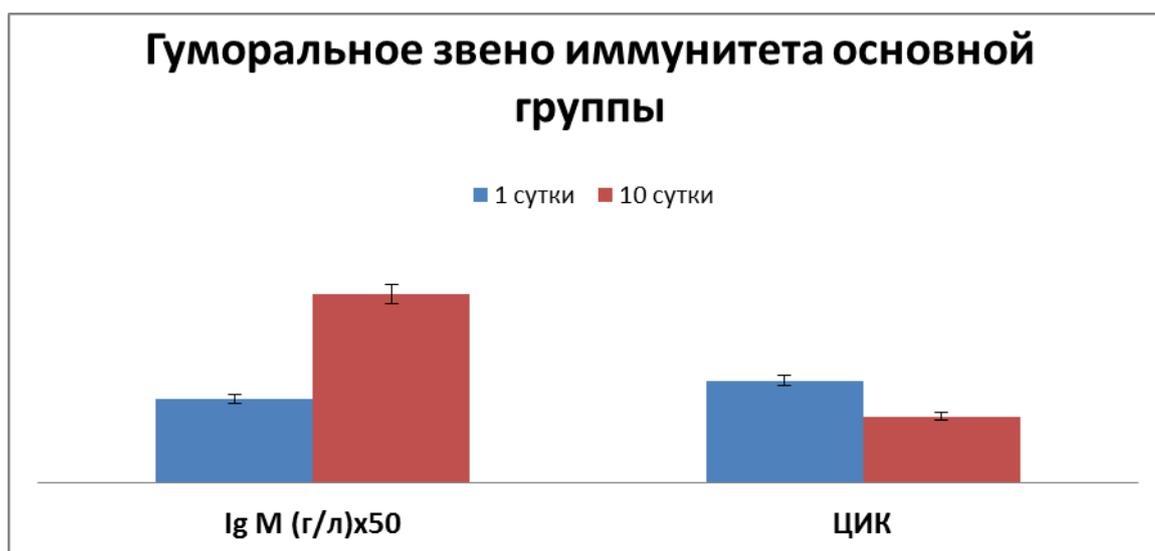


Рисунок 11 – Показатели гуморального звена иммунитета в основной группе сравнения на 1 и 10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели кислородзависимого метаболизма НГ у больных основной группы представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных основной группы ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
НСТ-тест спонтанный, %	5-10	19,01 ± 0,93	21,48 ± 0,70*
НСТ тест индуцированный, %	7-21	32,95 ± 3,28	49,48 ± 2,43 ***
Индекс стимуляции, %	≥0,5	0,18 ± 0,02	0,51 ± 0,04***
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Как следует из данных последней, величина спонтанного и стимулированного вариантов НСТ-тестов после проведенной цитокинотерапии Ронколейкином®, включенным в аутологичные эритроцитарные оболочки, статистически достоверно увеличились соответственно в среднем на 10% ($p \leq 0,05$) и на 50% ($p \leq 0,001$), а индекс стимуляции – почти в три раза и соответствует нормальным значениям ($p \leq 0,001$) (рисунок 12).

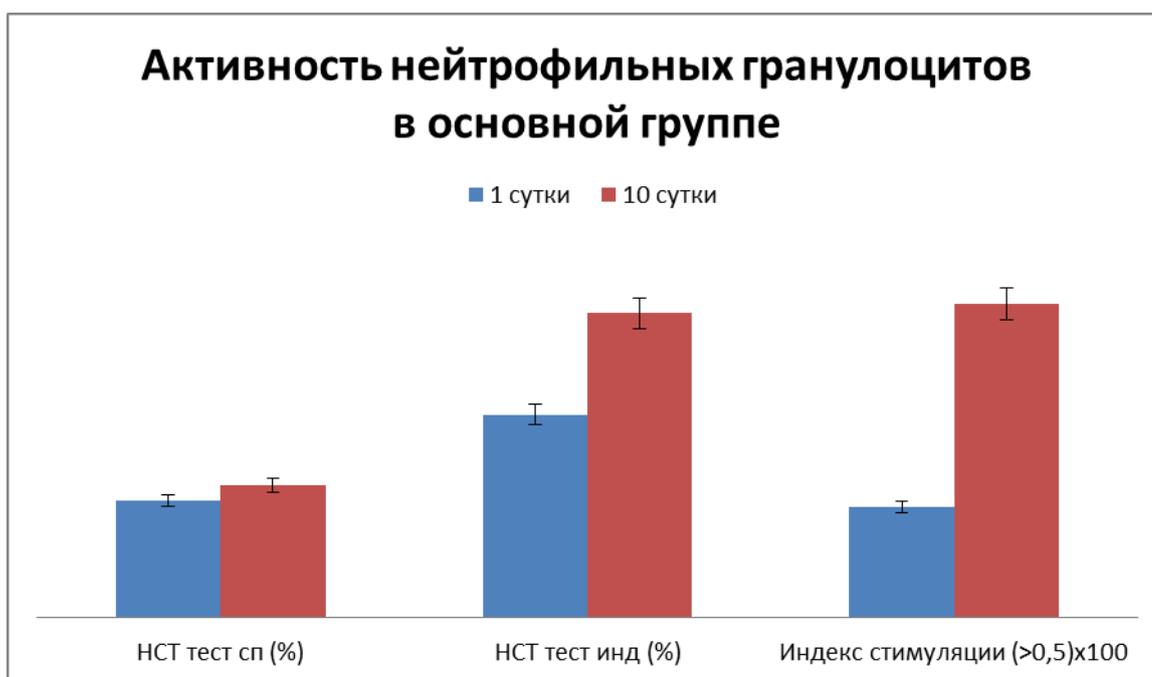


Рисунок 12 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных основной группы ($x \pm s$)

Как и в контрольной группе, средние арифметические значения трансаминаз (АЛТ, АСТ) не могут быть использованы по вышеуказанным причинам ($\sigma \geq x$) (таблица 20).

Таблица 20 – Показатели биохимических анализов крови у больных сепсисом основной группы на 1-е и 10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	норма	Срок и наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
Общий билирубин (мкмоль/л)	8,6-20,0	30,87 ± 5,3	17,59 ± 1,48 *
АЛТ (U/л)	муж. – до 45 жен. – до 34	0,3-1000,0	0,2-184,0
АСТ (U/л)	муж. – до 41 жен. – до 31	0,38-671,0	0,3-161,0
Диастаза (U/л)	10-124	6,0-2700,0	8,0-327,0**
Общий белок (г /л)	64-84	63,38 ± 2,24	56,08 ± 2,21 *
Глюкоза (ммоль/л)	3,89-6,38	7,23±0,64	5,56±0,70

* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$

Тем не менее, можно заключить, что после проведенной цитокинотерапии эритроцитарными фармакоцитами с rIL-2 концентрация общего билирубина в сыворотке крови статистически значимо ($p \leq 0,05$) снизилась более чем в 4,5 раза и стало в пределах нормальных значений. Правда, содержание общего белка в крови так же достоверно снизилось на 10% ($p \leq 0,05$) (рисунок 13).

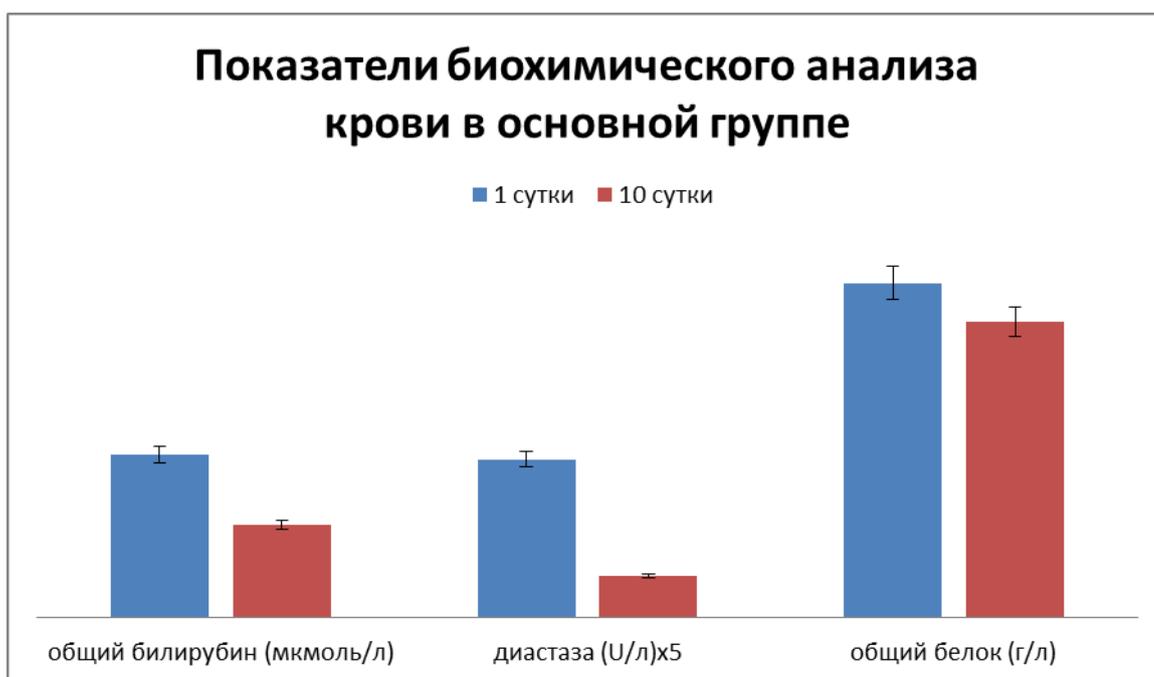


Рисунок 13 – Показатели биохимических анализов крови у больных сепсисом основной группы на 1-е и 10-е сутки наблюдения ($\bar{x} \pm s$)

Сравнительный анализ показателей АЛТ и АСТ до и после цитокинотерапии с использованием непараметрических критериев межгрупповых статистически достоверных различий не выявил ($p \geq 0,05$). Уровень же амилазы в сыворотке крови после проведенного курса терапии Ронколейкином® снизился статистически достоверно ($p \leq 0,01$), что было установлено с помощью Т-критерия Уайта. Особенно это было характерно для больных панкреатогенным сепсисом. Содержание глюкозы в крови статистически значимо не снизилось, однако средние значения стали в пределах нормы. Как и в предыдущей (контрольной) группе, сделана оценка степени острых функциональных расстройств (M-SAPS), эндогенной интоксикации (ЛИИ) и распространенности инфекции (концентрация прокальцитонина в крови) (таблица 21).

Таблица 21 – Показатели бальной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови ($\bar{x} \pm s$)

Показатели	норма	Сроки наблюдения	
		1-е сутки	10-е сутки
M-SAPS (баллы)	0-4	7,18±0,70	4,27±0,90*
ЛИИ, ус. ед.	0,6-1,6	2,91 ± 0,18	1,19 ± 0,09 ***
Прокальцитонин (нг/мл)	до 0,5	2,83±0,24	0,85±0,15***
* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$			

Из данных таблицы 21 следует, что балльный показатель по шкале M-SAPS статистически достоверно снизился почти в 1,7 раза ($p \leq 0,05$), приближаясь к верхнему пределу нормальных значений. ЛИИ статистически значимо уменьшился почти в 2,5 раза и стал в пределах нормальных значений ($p \leq 0,001$).

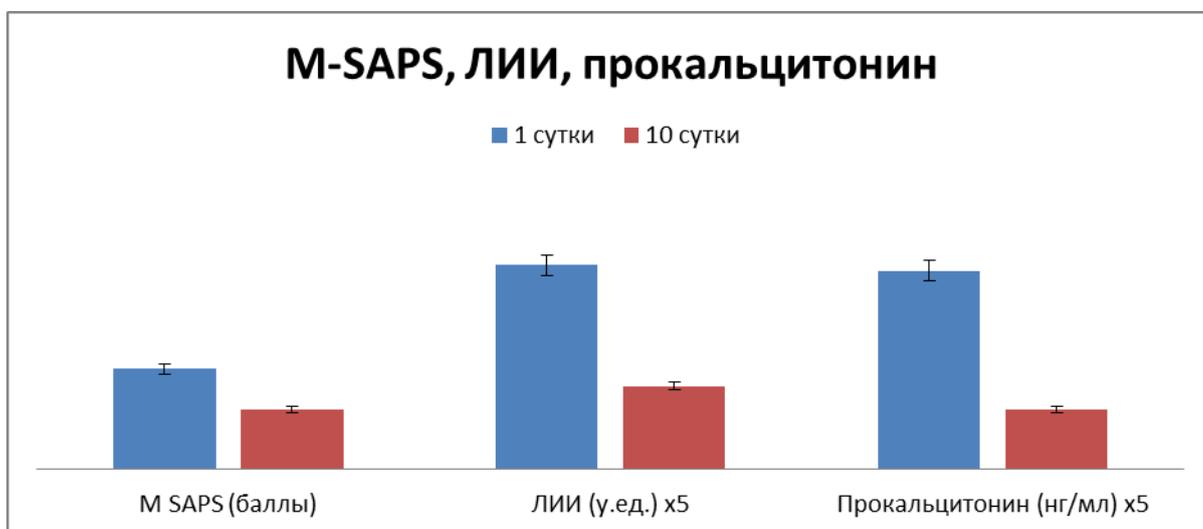


Рисунок 14 – Показатели балльной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови ($\bar{x} \pm s$)

Концентрация прокальцитонина в сыворотке крови статистически достоверно ($p \leq 0,001$) стала меньше в 3,3 раза, тем не менее, оставаясь выше верхнего предела нормы (рисунок 14).

Средние сроки стационарного лечения больных рассматриваемой группы составили $21,09 \pm 3,4$. Летальных исходов не было.

3.1.3 Сравнительная оценка клинико-иммунологической эффективности Ронколейкина® в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом при традиционном внутривенном введении препарата или использовании его составе эритроцитарных фармакоцитов

В данном подразделе результатов собственных исследований в приводимых таблицах нет конкретных цифровых данных, т.к. они были детально обсуждены в предыдущих подразделах главы. Для удобства сравнительного анализа обозначены векторные признаки с указанием их статистической значимости.

Основные показатели SIRS по завершении курса цитокинотерапии rIL-2 у больных хирургическим сепсисом контрольной и основной групп, т.е. на 9-10 сутки, представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Основные показатели SIRS по завершении курса цитокинотерапии rIL-2 у больных хирургическим сепсисом контрольной и основной групп ($\bar{x} \pm s$)

Показатели SIRS	Сроки наблюдения	
	Контрольная группа	Основная группа
Температура тела	↔	↓↓↓
ЧСС в 1 мин.	↔	↓↓↓
ЧД в 1 мин.	↔	↓↓
К-во лейкоцитов в 1 мкл. ($\times 10^9/\text{л}$)	↔	↓↓↓

Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое

Как видим, если у больных контрольной группы после проведенного лечения основные показатели системного воспалительного ответа (SIRS) статистически значимо не изменялись, то у больных основной группы они все с высокой степенью статистической достоверности снизились. Причем средние значения температуры тела ЧД, и количества лейкоцитов в 1 мкл. были в пределах нормальных значений (рисунок 15).

То есть, применение Ронколейкина®, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, способствует более ускоренному регрессу системной воспалительной реакции организма, чем при традиционном внутривенном его использовании.

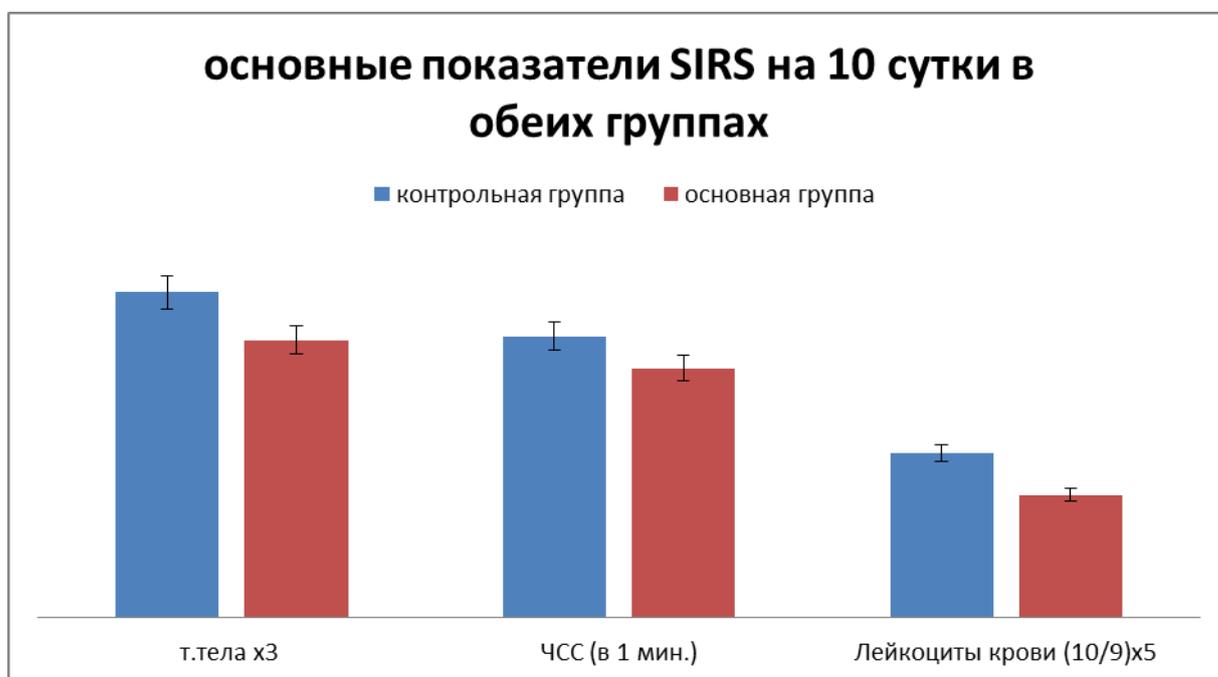


Рисунок 15 – Основные показатели SIRS по завершении курса цитокинотерапии rIL-2 у больных хирургическим сепсисом контрольной и основной групп ($\bar{x} \pm s$)

Особо следует отметить, что численные значения температуры тела, ЧСС и лейкоцитоза у больных основной группы были достоверно ниже, чем у пациентов сравняемой контрольной группы ($p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$ соответственно) (рисунок 15). То есть применение Ронколейкина®, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, способствует более ускоренному регрессу системной воспалительной реакции организма, чем при традиционном внутривенном его использовании.

Показатели гемограммы после проведенного курса цитокинотерапии у пациентов обеих групп представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Показатели общего анализа крови у больных хирургическим сепсисом контрольной и основной групп на 9-10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	Контрольная группа (n=18)	Основная группа (n=21)
Гемоглобин (г/л)	↓↓	↓↓
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	↔	↔
СОЭ (мм/ч)	↔	↔
Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое		

Из данных таблицы 23 следует, что по динамике показателей «красной крови» и СОЭ каких-либо различий между больными контрольной и основной групп не установлено.

Количественные показатели клеточного звена иммунитета после интенсивной терапии, включавшей Ронколейкин®, представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Показатели клеточного звена иммунитета контрольной и основной групп на 9-10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм пациентов контрольной и основной групп	Контрольная группа (n=18)	Основная группа (n=21)
1	2	3
Лимфоциты, %	↑↑	↔
абс	↔	↔
CD3 + Т-лимфоциты, %	↔	↔
абс	↑	↔
CD4+ Т-хелперы, %	↔	↔
абс	↑	↔

Продолжение таблицы 24

1		2	3
CD8+ Т-супрессоры,	%	↑	↑↑
	абс	↑	↔
CD20+ В-лимфоциты,	%	↔	↑
	абс	↑↑↑	↔
CD 0,	%	↔	↔
	абс	↔	↔
Иммунорегуляторный индекс CD4/CD8		↔	↑↑
Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое			

При анализе данных таблицы 24 обращает внимание тот факт, что, во-первых, если у больных основной группы количественные характеристики лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3+) и их хелперно-индукторной субпопуляции (CD4+) по завершении цитокинотерапии статистически значимо не изменились и находились в пределах нормы, то у больных контрольной группы абсолютное количество этих клеток статистически значимо ($p \leq 0,05$) возрастало и было за пределами верхнего значения нормы, а относительное число лимфоцитов достоверно увеличиваясь ($p \leq 0,01$), было в пределах нормальных колебаний.

Во-вторых, однако, у больных основной группы в большей степени ($p \leq 0,01$), чем в контрольной ($p \leq 0,05$), достоверно увеличивалось абсолютное количество CD8+-клеток. В обеих группах эти значения превышали норму. При этом относительное число CD+-лимфоцитов статистически значимо нарастало только у больных контрольной группы и было выше нормального предела ($p \leq 0,05$).

Третье, у пациентов контрольной группы значительно, статистически значимо ($p \leq 0,001$) увеличивалось абсолютное количество В-лимфоцитов, чего не наблюдалось у больных основной группы, у которых, наоборот, достоверно ($p \leq 0,05$) возрастало относительное их количество.

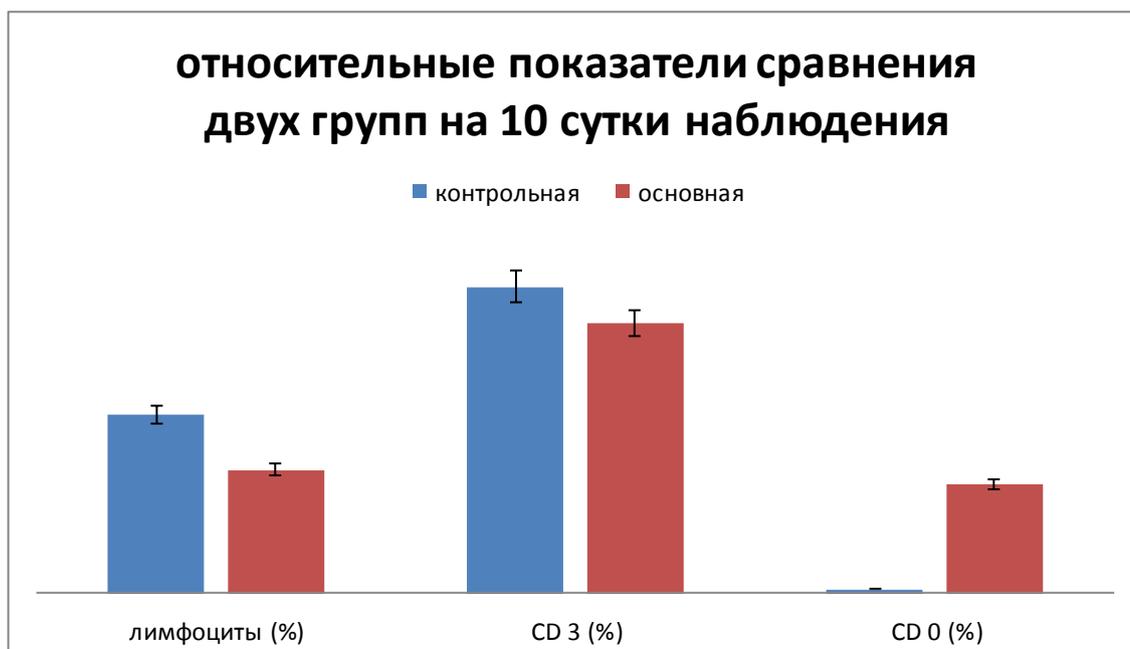


Рисунок 16 – Относительные показатели клеточного звена иммунитета контрольной и основной групп на 9-10 сутки наблюдения ($\bar{x} \pm s$)

Четвертое, если у больных контрольной группы ИРИ статистически значимо не изменился и был ниже нормы, то в основной группе значение его достоверно увеличилось и стало в нормальных пределах ($p \leq 0,01$).

И последнее, абсолютное число CD8+-клеток и 0-лимфоцитов у больных контрольной группы достоверно превышало соответствующий показатель пациентов основной группы ($p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$ соответственно), тогда как, величина ИРИ у пациентов основной группы была достоверно выше, чем у больных контрольной группы ($p \leq 0,001$) (рисунки 16,17).

абсолютные показатели клеточного звена иммунитета на 10 сутки в двух группах

контрольная основная

Лейкоциты (10/9) Лимфоциты (10/9) x5 CD 3 (10/9) x5 CD 4 (10/9) x5 CD 8 (10/9) x10 CD 0 (10/9) x10 ИРИ (CD 4/CD8) x10

Рисунок 17 – Абсолютные показатели клеточного звена иммунитета контрольной и основной групп на 9-10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Данные о показателях гуморального звена иммунитета после цитокинотерапии у больных контрольной и основной групп представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Показатели гуморального звена иммунитета в контрольной и основной группах на 9-10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм	Контрольная группа (n=18)	Основная группа (n=21)
Ig A, г/л	↔	↔
Ig M, г/л	↑	↑↑
Ig G, г/л	↔	↔
ЦИК, у.е.	↔	↓
Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое		

Следует из данных таблицы 25, после проведенного интенсивного лечения, включающего курс цитокинотерапии Ронколейкином®, содержание в плазме иммуноглобулинов Ig A и Ig G как у больных контрольной группы, так и основной группы статистически значимо не изменилось ($p \geq 0,05$). Тогда как концентрация Ig M статистически значимо возросла; причем у больных основной группы значительнее ($p \leq 0,01$), чем контрольной ($p \leq 0,05$), но тех и у других была в пределах нормальных колебаний. Особо следует отметить тот факт, что если у пациентов контрольной группы концентрация в плазме ЦИК не изменилась статистически значимо ($p \geq 0,05$), то в основной группе она

статистически достоверно уменьшилась ниже нормального уровня ($p \leq 0,05$) (рисунок 18). Необходимо заметить, что концентрация Ig G в плазме у больных контрольной группы была достоверно выше, чем у больных основной группы ($p \leq 0,01$) (рисунок 18). Тогда как, содержание ЦИК, наоборот, в контрольной группе было статистически значимо выше, чем в основной группе ($p \leq 0,001$) (рисунок 18).

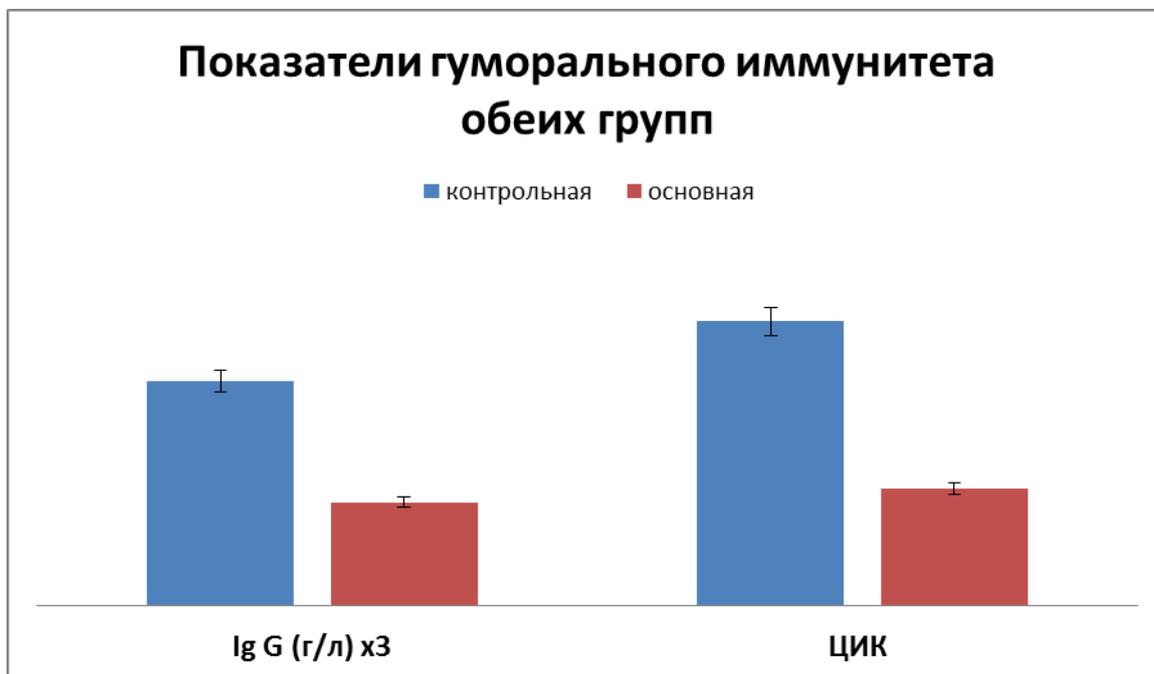


Рисунок 18 – Показатели гуморального звена иммунитета в контрольной и основной группах на 9-10 сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов (по данным НСТ-теста) у больных контрольной и основной групп после курса цитокинотерапии представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных контрольной и основной групп после завершения курса цитокинотерапии ($x \pm s$)

Показатели иммунограмм	Группы	
	Контрольная группа	Основная группа
НСТ-тест спонтанный, %	↑↑	↑
НСТ тест индуцированный, %	↑↑↑	↑↑↑
Индекс стимуляции, %	↑↑↑	↑↑↑

Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое

Как следует из данных таблицы 26, все изучаемые показатели НСТ-теста как у больных контрольной группы, так и основной группы, после курса лечения статистически значимо увеличились, и достаточно сильно. Причем средняя величина спонтанного (НСТ сп.) и стимулированного пирогеналом (НСТ ст.) вариантов превысила верхние пределы нормальных значений, а средние величины ИС были в пределах нормы (рисунок 19).

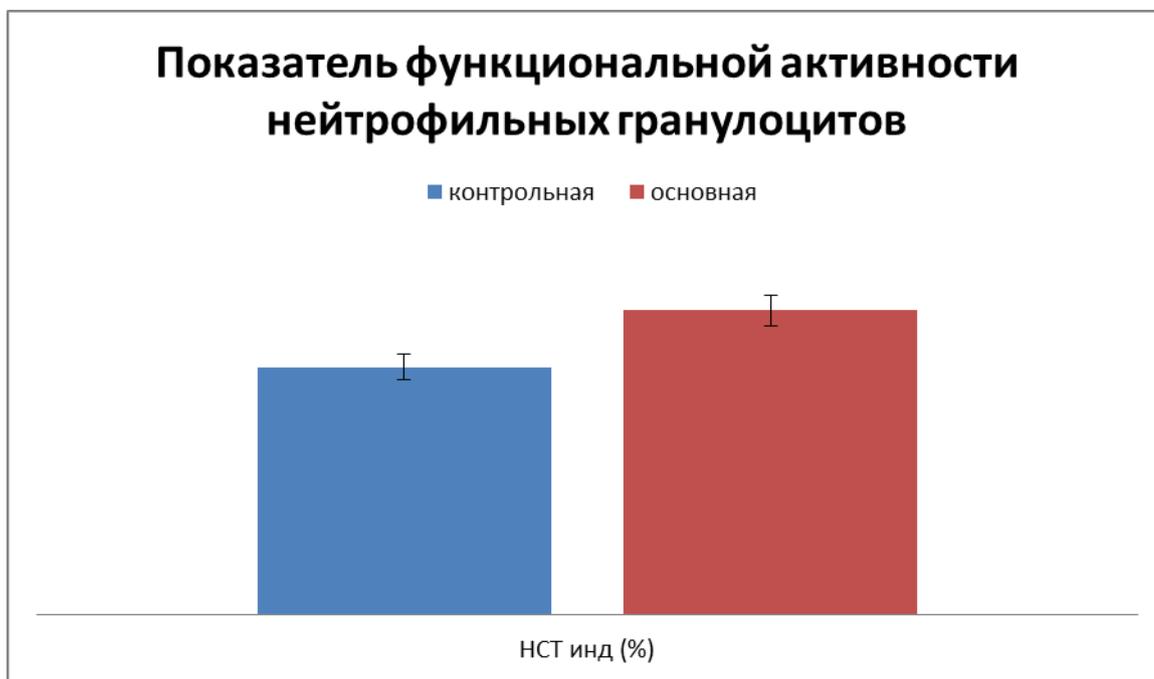


Рисунок 19 – Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных контрольной и основной групп после завершения курса цитокинотерапии ($x \pm s$)

Следует обратить внимание на тот факт, что величина индуцированного варианта НСТ-теста была достоверно выше у больных основной группы, чем контрольной ($p \leq 0,05$) (рисунок 19).

Подводя итоги сравнительному анализу иммунограмм больных контрольной и основных групп на момент окончания курса цитокинотерапии Ронколейкином®, следует отметить, что отдельные показатели в обеих исследуемых группах превышали соответствующую величину нормальных колебаний. Если у больных контрольной группы это касается таких трех количественных показателей, как относительное число CD8+-клеток и величины НСТ сп. и НСТ ст., то в контрольной группе выше нормы было шесть показателей: относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов, абсолютное число Т-лимфоцитов-хелперов, относительное число Т-супрессоров, спонтанный и стимулированный варианты НСТ-теста. Таким образом, в два раза большее количество превышающих норму показателей у больных контрольной группы, чем основной после завершения курса цитокинотерапии Ронколейкином®, вероятнее всего, свидетельствует о продолжающейся у них (больных контрольной группы) антигенной

стимуляции, т.е. о не полностью купированном системном воспалительном ответе, как было показано выше.

Показатели биохимических анализов крови у больных сепсисом контрольной и основной групп на 9-10-е сутки наблюдения, т.е. по завершению курса цитокиноотерапии представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Показатели биохимического анализа крови у больных с сепсисом контрольной и основной групп на 9-10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	Группы сравнения	
	Контрольная группа	Основная группа
Общий билирубин (мкмоль/л)	↔	↓
АЛТ (U/л)	↔	↔
АСТ (U/л)	↔	↔
Диастаза (U/л)	↔	↓↓
Общий белок (г /л)	↔	↓
Глюкоза (ммоль/л)	↔	↔

Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое

Данные таблицы 27 свидетельствуют о том, что по завершению курса терапии цитокиновым препаратом rIL-2 все исследуемые биохимические показатели венозной крови у больных контрольной группы статистически значимо не изменились ($p \geq 0,05$). В основной же группе имеет место статистически достоверное снижение уровня общего билирубина в сыворотке крови ($p \leq 0,05$) (рисунок 20).

Тогда как в контрольной группе, это подтверждается косвенно (статистически достоверное уменьшение числа больных с гипербилирубинемией по критерию χ^2). При сравнении концентрации билирубина в сыворотке крови у больных контрольной и основной групп (по Т-критерию Уайта) после окончания курса цитокиноотерапии статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p \geq 0,05$). Несмотря на то, что при этом число лиц с гипербилирубинемией в контрольной группе было 2 из 18 (11,1%), а в основной – 7 из 21 (33,3%), по критерию χ^2 , данное различие статистически не значимое ($p \geq 0,05$). Кроме того, у больных основной группы по завершению курса цитокиноотерапии rIL-2 содержание амилазы в крови статистически достоверно ($p \leq 0,05$) снизилось (по Т-критерию Уайта); правда уровень общего белка тоже статистически значимо ($p \leq 0,05$) уменьшилось ниже размаха нормальных значений. Содержание в крови амилазы по завершению курса цитокиноотерапии у больных контрольной группы было достоверно ниже, чем у пациентов основной группы ($p \leq 0,01$ по Т-критерию Уайта).

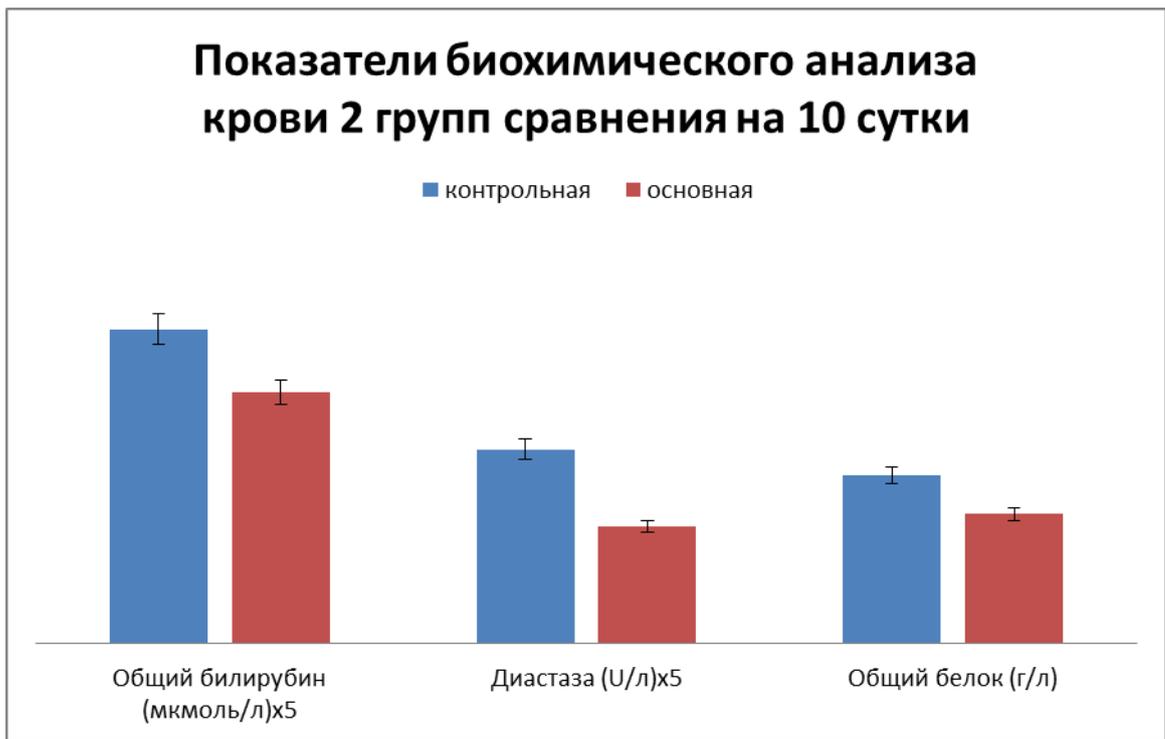


Рисунок 20 – Показатели биохимического анализа крови у больных с сепсисом контрольной и основной групп на 9-10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Однако, это отнюдь не свидетельствует о патологической амилаземии у больных основной группы. Во-первых, расчет производился по абсолютным цифровым величинам, без учета пределов нормальных колебаний. Во-вторых, подтверждением тому является не установленная статистически значимая межгрупповая разница по числу пациентов с гиперамилаземией (по критерию χ^2), количество которых в контрольной группе было 1 из 18 (5,5%), а в основной группе – 2 из 21 (9,5%) ($p \geq 0,05$).

При анализе содержания в сыворотке крови трансаминаз (АЛТ, АСТ) и общего белка с использованием непараметрических критериев, а также глюкозы (по t-критерию Стьюдента), статистически значимых межгрупповых различий не установлено ($p \geq 0,05$).

Показатели балльной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови у больных контрольной и основной групп по завершению цитокинотерапии Ронколейкином® представлены в таблице 28.

Как видим, названные показатели у больных контрольной группы после курса комплексной интенсивной терапии, включающей rIL-2, изменились статистически не достоверно ($p \geq 0,05$).

Таблица 28 – Показатели бальной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови у больных контрольной и основной групп на 9-10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Показатели	Группы наблюдения	
	контрольная	основная
М-SAPS (баллы)	↔	↓
ЛИИ, ус. ед.	↔	↓↓↓
Прокальцитонин (нг/мл)	↔	↓↓↓

Примечание - (↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,05$; (↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,01$; (↑↑↑) - достоверное увеличение, $p \leq 0,001$. (↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,05$; (↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,01$; (↓↓↓) - достоверное уменьшение, $p \leq 0,001$. (↔) - изменение статистически не значимое

У больных же основной группы сумма баллов по шкале M-SAPS достоверно снизилась ($p \leq 0,05$) и приблизилась к верхнему пределу нормы. Показатель ЛИИ значительно достоверно уменьшился ($p \leq 0,001$) и стал нормальным.

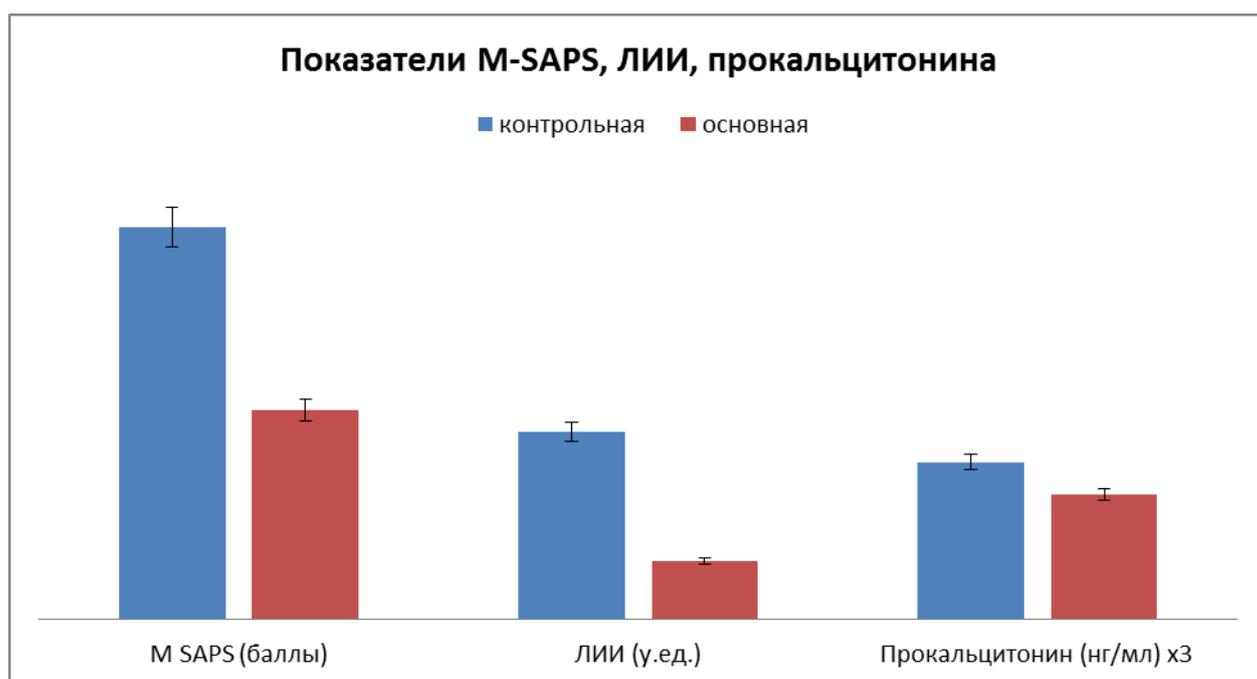


Рисунок 21 – Показатели бальной оценки по шкале M-SAPS, ЛИИ и концентрации прокальцитонина в сыворотке крови у больных контрольной и основной групп на 9-10-е сутки наблюдения ($x \pm s$)

Концентрация в сыворотке крови прокальцитонина также статистически значимо упала ($p \leq 0,001$), но среднее ее значение все еще превышало верхний предел нормы (рисунок 21).

Особо следует отметить, что по завершению курса цитокинотерапии Ронколейкином® сумма баллов по шкале M-SAPS и величина ЛИИ у больных

основной группы были достоверно ниже, чем у пациентов контрольной группы (в два и в три раза соответственно, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$) (рисунок 21). По уровню прокальцитонина статистически значимых межгрупповых различий не получено ($p \geq 0,05$).

Статистически значимого различия по срокам стационарного лечения между контрольной и основной группами не установлено ($p \geq 0,05$).

Таким образом, после проведенной цитоцитотерапии эритроцитарными фармаоцитами с rIL-2 у больных основной группы объективно регистрируется достоверное снижение степени острых функциональных нарушений, эндогенной интоксикации и распространенности инфекционного процесса, чего не отмечено в отношении больных контрольной группы.

Более обстоятельно результаты сравнительного анализа лечебной эффективности цитокинового препарата Ронколейкина® при различных способах его введения в организм при комплексном лечении больных хирургическим сепсисом будут обсуждены в заключении настоящей работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хирургический сепсис – наиболее часто встречаемая среди всех гнойно-воспалительных заболеваний патология. Это обобщающее понятие, включающее в себя (Козлов В.К., 2008):

- *посттравматический сепсис*, который возникает в случаях генерализации инфекции у пострадавших от ранений и травм;
- *панкреатогенный сепсис* – как осложнение острого деструктивного панкреатита;
- *акушерско-гинекологический сепсис* – как осложнение родов и абортот;
- *общехирургический сепсис* – в том числе при выполнении операций на сердце и сосудах (*ангиогенный*), на органах брюшной полости (*абдоминальный*).

С учетом того, что «сепсис - есть синдром СВО (SIRS) на инфекцию» лечебное применение Ронколейкина® не кажется теоретически обоснованным. SIRS – является результатом патологического влияния избытка цитокинов. При этом искусственное введение еще одного цитокина, казалось бы, не совсем логично [218].

В этой связи на западе велись активные исследования по разработке методов антицитокиновой терапии, основанная на использовании моноклональных антител для нейтрализации агентов-триггеров острой воспалительной реакции, несмотря на обнадеживающие результаты экспериментальных исследований, в клинической практике оказалась малоэффективной [43, р. 722; 219,220]. Хотя в последнее время, в связи с усовершенствованием высокоэффективных методов селективной элиминации провоспалительных цитокинов, имеются положительные отзывы о результатах использования гемодиализа, плазмафереза и других новых способах детоксикации, в частности при лечении билиарного сепсиса [221].

Действительно, в первую фазу сепсиса (в частности, абдоминального сепсиса) при выраженном синдроме системного воспалительного ответа (ССВО) имеет место выброс большого количества провоспалительных цитокинов, медиаторов воспаления, свободных радикалов, продуктов гидроперекиси липидов и др. Однако во вторую фазу сепсиса формирование полиорганной дисфункции с резким усилением апоптоза лимфоидных клеток происходит на фоне длительного персистирования в системном кровотоке низких концентраций провоспалительных цитокинов и увеличения противовоспалительных цитокинов [222, 223, 224, 225, 226]. Некоторые авторы характеризуют данный процесс как «злокачественную форму внутрисосудистого воспаления», когда на фоне дисфункции эндотелия формируется мощная противовоспалительная реакция с экспрессией анергии [86, р.848-850; 225, с.170-172], прежде всего, анергии моноцитов. Возрастает число активных юных форм нейтрофильных гранулоцитов с повышенной экспрессией CD11b, сниженной экспрессией L-селектина и адгезией. Ингибируется фагоцитарная активность, повышается проницаемость

сосудистого эндотелия, увеличивается миграция лейкоцитов и повреждение ими ткани интерстиция [227]. То есть формирование структуры вторичной иммунной недостаточности происходит в результате доминирования иммуносупрессорных тенденций, требующих проведения иммунотерапии [221, 223, с. 23-24; 225, с. 170-172; 28, с. 450-452; 228]. То есть при сепсисе, который является самым тяжелым осложнением гнойно-воспалительных хирургических заболеваний, вторичная иммунная недостаточность имеется уже исходно, являясь основной причиной генерализации инфекции. Поэтому показания к иммунотерапии при сепсисе следует считать абсолютными. С.В. Петров и Н.А. Бубнова также связывают развитие сепсиса с первично существующим иммунодефицитом.

Во-первых, IL-2 правильнее считать не иммуностимулятором, а иммуномодулятором (регуляторный цитокин по Б.С. Брискину) [28, с. 450-452], основным медиатором иммунного ответа [163, с. 22-23].

Исходное нарушение функционирования иммунной системы у хирургических больных может приводить к истощению как провоспалительных, так и противовоспалительных регуляторных механизмов. Формированию иммунодефицита, различного по направленности, который определяется как «иммунологический диссонанс» и на фоне которого развивается сепсис. Во-вторых, для сепсиса характерно не столько избыток либо недостаток каких-либо цитокинов, а их дисбаланс – «цитокиновая дезрегуляция» [2, с. 10-16].

Исходное нарушение функционирования иммунной системы у хирургических больных может приводить к истощению как провоспалительных, так и противовоспалительных регуляторных механизмов. Формированию иммунодефицита, различного по направленности, который определяется как «иммунологический диссонанс» и на фоне которого развивается сепсис [23, с. 450-452].

Каскад патологических изменений приводит к нарушению микроциркуляции, гипоперфузии органов, а это, в свою очередь, препятствует доставке фармакологических препаратов в зону воспаления, что снижает эффективность терапии при традиционных способах введения лекарственных средств.

Использование Ронколейкина® в комплексной интенсивной терапии генерализованных госпитальных инфекций, по мнению В.К. Козлова [2, с. 10-16], с которым солидарны многие хирурги и клинические иммунологи России и стран СНГ, явилось серьезным прорывом в лечении данной патологии, позволившим снизить летальность в среднем в два раза.

Однако существовало мнение, что при сепсисе Ронколейкин® не может являться препаратом для монотерапии. Первичный же иммуностимулирующий эффект должен быть закреплен последующей терапией (например, Т-активин) [58, с. 452-453; 1, с. 450-452]. Кроме того, очень часто имеется потребность в немедленной коррекции гуморального звена иммунитета (заместительная

терапия иммуноглобулинами, гипериммунной плазмой), а также в коррекции метаболических нарушений (гиперэргическое питание, анаболики, олифен).

Казалось бы, при уже имеющихся столь убедительных и впечатляющих успехах цитокинотерапии rIL-2 трудно предполагать какую-либо оптимизацию данного метода иммунотерапии.

Тем не менее, мотивацией для проведения нашего исследования явились следующие нижеприводимые основные моменты.

Во-первых, всякая фармакотерапия, включая и цитокинотерапию, допускает возможность ее оптимизации, в плане повышения эффективности при лечении отдельных видов инфекционной патологии, либо уменьшения риска возможных нежелательных побочных эффектов или осложнений.

Во-вторых, А.Г.Габибов отмечает, что существует ряд проблем, связанных с практическим применением рекомбинантных белков и пептидов [22, с. 82-87]. Это (1) недостаточная стабильность в системах *in vitro* и *in vivo*; неустойчивость к действию протеаз; (3) короткий период полураспада/полувыведения при введении в организм; (4) иммуногенность и антигенность, характерная даже для природных белков человека; (5) наличие побочных эффектов при длительном клиническом применении.

Третье, несмотря на то, что подавляющее большинство авторов не признают возможность (или не указывают их) каких-либо осложнений при применении в лечении гнойно-септических заболеваний Ронколейкина®, имеется на этот счет и противоположное мнение. В.К. Козлов отмечал, что у некоторых больных отмечается кратковременный озноб с непродолжительным подъемом температуры до 38-39⁰, умеренный акроцианоз и легкая эйфория [2, с.10-15]. Однако он считает, что это может свидетельствовать об адекватной активации цитокиновой реактивности.

Л.П. Пивоварова так же указывает, что при использовании высоких доз Ронколейкина® (500 тыс. - 1 млн. МЕ) после 2-ого и 3-его введения препарата наблюдается заметное снижение фагоцитарной активности лейкоцитов [58, с.452-454].

Четвертое, как правило, септическим больным назначаются относительно высокие разовые/суточные дозы названного цитокинового препарата – от 5 000 тыс. до 1 500 000 МЕ, а число внутривенных введений – до 3-5; в крайне тяжелых случаях разовая доза препарата может увеличиваться до 2 000 000 МЕ, а число введений – до 8 [128,36,1,11,2]. Хотя некоторые авторы, наоборот, предлагают пользоваться малыми дозами – 100-125 тыс. МЕ или 250 тыс. МЕ [28,58,29].

То есть, как доза разового внутривенного введения препарата (0,125 до 2,0 мг), так и суммарная курсовая доза от 0,125 мг (при однократной инфузии минимальной дозы) до 16,0 мг (при восьмикратном введении в максимальной дозе) значительно колеблется, различаясь в 16 (разовые/суточные дозы) и в 64 (курсовые дозы) раз, соответственно.

По мнению же А.Д. Толстого, при сепсисе кратность вливания препарата приоритетнее разовой дозы [1, с.448-450].

Пятое, нет единого мнения относительно того, когда следует начинать лечение Ронколейкином®: сразу же с момента установления диагноза, либо спустя некоторое время. Нет так же единого мнения относительно периодичности введения препарата.

Большинство авторов считают оптимальным применение Ронколейкина® с первого дня заболевания, достаточно высокими разовыми дозами, с интервалом 2-3 дня, как это рекомендуется сопроводительной инструкцией [28, с. 450-454; 23, с.450-457; 36, с.450-452; 2, с.10-16].

С.В. Петров же считает целесообразным применять Ронколейкин® (500 тыс. – 1 млн. ед.) на 2-е сутки после операции, т.к. в течение первых суток у тяжелых больных в ранние сроки после операционной травмы на фоне остаточного влияния наркотических средств, нестабильной гемодинамики цитокиноterapia может быть не безразлична для пациента [59, с.452-453].

Б.С. Брискин рекомендует назначать цитокиновый препарат на 3-и сутки манифестации заболевания; разовая доза должна быть – 125-250 тыс. МЕ; на курс 4-8 инфузий с интервалом 3 дня [28, с. 450-454].

По мнению Д.К. Новиковой, следует вводить препарат в малых дозах ежедневно - 125 до 500 тыс. МЕ на курс 4-8 введений. А К.В. Козлов указывает, что лишь при тяжелой ожоговой травме Ронколейкин® назначается больным в дозе 0,5-1,0 мг ежедневно в течение 3-4 дней [29, 31].

Шестое, О.Г. Цой с соавт. доказали возможность включения Ронколейкина® в оболочки эритроцитов человека. Это позволило создать векторную транспортную систему, представляющую собой аутологичные эритроцитарные оболочки с встроенным в них ронколейкином [210, с.38-39; 208, с. 318; 211, с.8-17].

В последующем было изучено селективное распределение цитокина в различных органах у экспериментальных животных. При этом отмечена наибольшая концентрация ИЛ-2 в печени [229].

Цикл лабораторных исследований *in vitro* по конструированию эритроцитарных фармакоцитов с ронколейкином и опыты *in vivo* по определению селективного распределения цитокинового препарата по различным органам при использовании новой лекарственной формы ронколейкина, позволили приступить к ее клинической апробации. Результатом явилось существенное повышение иммунокорректирующих и гепатопротекторных эффектов рекомбинатного ИЛ-2 (Ронколейкина®) в комплексном лечении больных острым гнойным холангитом при применении его в составе аутологичных эритроцитарных оболочек [206, с. 349; 207, с. 44; 209, с. 137; 229, с.309]. Важно то, что, наряду с гепатопротекторным эффектом, использование гИЛ-2, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, у больных острым гнойным холангитом достоверно повышало содержание в желчи ИЛ-2 и иммуноглобулинов [211, с. 8-17].

Седьмое, применение гИЛ-2 в составе эритроцитарных фармакоцитов предполагало селективное накопление их в органах, способных фагоцитировать эритроциты и микроциркуляторное русло которых имеет специальные

структурно-функциональные компоненты - синусоиды. В первую очередь, имеются ввиду первичные (центральные) органы иммунной системы – костный мозг и тимус и вторичные (периферические) – селезенка, а также печень, иммунобиохимические свойства которой достаточно обстоятельно освещены в специальной литературе [230,231,232,233]. Это весьма важно еще и потому, что при сепсисе на функцию лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов, находящихся в кровотоке и в тканях, повлиять практически не возможно, т.к. эти клетки уже выполняют свою генетически запрограммированную роль, участвуя в процессах воспаления [227, с.13-15].

Синусоиды представляют собой органоспецифические образования капиллярного ложа. Они имеются в печени, селезенке, костном мозге, в эндокринных железах, т.е. в органах, выполняющих высокоспециализированную обменную функцию. Поэтому их эндотелиальная стенка по проницаемости для различных веществ и форменных элементов крови отличается от таковой истинных капилляров. В норме стенка синусоида непроницаема для эритроцитов. В фазу накопления, благодаря наличию на входе и выходе синусоида сфинктеров – так называемого «шлюзового механизма», кровь в них может находиться в течение нескольких минут или даже до 10 часов. Главной особенностью синусоидов (синусов или капилляров третьего типа) является наличие широких межэпителиальных щелей, каналов или промежутков и почти полное отсутствие базальной мембраны. Поэтому стенки синусов и синусоидов обладают наибольшей проницаемостью. То есть в печени, селезенке и костном мозге не может существовать гемато-паренхиматозного барьера, т.к. плазма крови непосредственно контактирует с паренхимой. Однако в последующем электронно-микроскопическими исследованиями было установлено, что, в частности в печени, эквивалентом базальной мембраны является пространство Диссе, в котором находятся ретикулярные волокна, клетки Купфера и основное межклеточное вещество. Основная масса макромолекулярных веществ, содержащихся в крови и способных выйти в ткань, контактируют с эндотелиальными и купферовскими клетками. Если эти вещества способны стимулировать фагоцитоз или пиноцитоз, то большее количество их поглощается клетками. Поскольку клетки способны концентрировать поглощаемые вещества, то в количественном отношении процесс извлечения их из крови весьма эффективен [234].

Благоприятным моментом при этом является патологическая проницаемость капилляров, характерная почти для всех острых и хронических инфекционных заболеваний. Любое воспаление начинает проявляться сосудистыми расстройствами (гиперемия, стаз, повышение проницаемости и экссудация). Именно этими расстройствами обусловлены такие классические признаки воспаления, как *rubor, color et tumor*. При этом воспалительный процесс не ограничивается только непосредственно очагом воспаления. Через нейрогуморальные сдвиги, стимулом которых является очаг воспаления, могут наступать одновременно отдельные функциональные нарушения во многих других органах и системах, в т.ч. в капиллярно-соединительнотканых

структурах [235]. То есть, кардинальным признаком и патологическим звеном инфекционного воспаления являются расстройства микроциркуляции и проницаемости кровеносных сосудов [236,235, с. 222-234; 237]. Это характерно так же для ожоговой болезни [238] и шока вообще [239,240].

И последнее, использование в комплексной интенсивной терапии хирургического сепсиса ежедневно малых доз rIL-2 с более удлиненным действием, способных накапливаться в органах иммунной системы, а также непосредственно в очагах воспаления, скорее всего, должно повысить противовоспалительный, иммуномоделирующий, опосредованный детоксикационный и органопротекторный эффект данного рекомбинантного цитокинового препарата. Это несмотря на то, что цитокины являются короткоживущими веществами короткодистантного действия.

Вышеприведенное показывает, что настоящее исследование относится к категории *confirmatory*, т.е. проверяющих гипотезу.

Исследование основывается на сравнительном анализе результатов лечения Ронколейкином®) двух групп больных (контрольной и основной) хирургическим сепсисом различной этиологии. Больным контрольной группы (18 человек) в комплексном лечении цитокиновый препарат вводился традиционно внутривенно по 500 тыс. МЕ 4-5 раз через 24-48 часов; курсовая доза составила 2,0-2,5 млн ЕД. В основной группе (21 человек) исследуемые пациенты получали лекарственное средство, включенное в состав аутологичных эритроцитарных оболочек в дозе по 250 тыс. ЕД - эритроцитарные фармакоциты, ежедневно, так же внутривенно; курсовая доза была аналогичной - 2,25-2,5 млн. ЕД. Как видим, различие между группами заключалось в способе введения препарата, разовой дозировке и в периодичности применения. Хотя суммарные курсовые дозы были идентичными.

Прежде всего, необходимо отметить, что при оценке эффективности иммунотерапии, прежде всего, принимается во внимание динамика клинических проявлений заболевания. Ведущими являются клинические критерии (степень иммунодефицита), а качественные (структурные нарушения иммунологических показателей) играют подчиненную роль [1, с. 448-450]. Второе, оценка должна проводиться не каждого показателя иммунограммы по отдельности, а во взаимосвязи со всеми остальными показателями, т.е. всей иммунограммы в целом. И третье, только нормализация всех показателей иммунограммы свидетельствует о тенденции к выздоровлению больного.

Ж.А.Ребенок называет сепсис иммунозависимым «первично злокачественным инфекционным заболеванием» с ациклическим течением, при котором спонтанное выздоровление недостижимо [218, с. 451-453].

При сепсисе органо-системные поражения, прежде всего, связаны с чрезмерным неконтролируемым распространением из первичного очага провоспалительных медиаторов эндогенного происхождения. Эти биологически активные вещества активируют ряд иммунокомпетентных клеток, включая другие органы и ткани с вторичным выделением субстанций,

повреждающих эндотелий, снижающих тканевую перфузию и доставку кислорода [241,242,221,].

Помимо этого, экзо- и эндотоксины также индуцируют гиперпродукцию провоспалительных цитокинов макрофагами, лимфоцитами, эндотелиоцитами, что характерно для SIRS-синдрома [243,244,245,246].

Поэтому, при оценке клинической эффективности цитокинотерапии rIL-2 у пациентов обеих исследуемых групп прежде всего фиксировалась динамика общепринятых четырех основных симптомов Синдрома системного воспалительного ответа (SIRS-синдрома). Установлено, что в контрольной группе больных после проведенной цитокинотерапии традиционным способом все четыре показателя SIRS достоверно не изменились. Тогда как, у больных основной группы они статистически значимо снизились; это касается температуры тела ($p \leq 0,001$), ЧСС ($p \leq 0,001$), ЧД ($p \leq 0,01$), лейкоцитоза ($p \leq 0,001$); причем, за исключением ЧСС, средние их значения были в пределах нормы. То есть у больных основной группы по завершению цитокинотерапии имеет место купирование основных симптомов SIRS, чего нельзя констатировать в отношении пациентов контрольной группы.

Сравнительный анализ заключительных иммунограмм также выявил существенные межгрупповые различия. Прежде всего, следует отметить, если ранее мембранные молекулы CD8^+ Т-лимфоцитов расценивали как маркер иммуносупрессорных клеток [247], то в настоящее время эти лимфоциты по функции являются больше цитотоксическими (ЦТЛ Т-киллеры) [231, с. 35-45].

Со стороны клеточного звена иммунитета, у больных контрольной группы практически все показатели пришли в норму, но по отдельным из них имелось достоверное превышение ее верхнего значения (абсолютное число CD3^{+-} и CD4^{+-} -клеток, относительное количество CD8^{+-} -лимфоцитов; $p \leq 0,05$). Следует отметить, что высокий уровень Т-лимфоцитов при выраженной клинической картине сепсиса – является неблагоприятным признаком, указывающим на вялое течение с тенденцией к хронизации и характерно также для самых тяжелых септических процессов [147, с.25-40; 26, с.35-48]. А абсолютное и относительное увеличение содержания в крови ЦТЛ на фоне нормального уровня CD4^{+-} -клеток – характерно для второй половины сепсиса, ближе к его окончанию [248,249].

В основной же группе абсолютное большинство показателей клеточного звена иммунитета на тот же момент были в пределах нормальных колебаний; лишь процентное содержание цитотоксической субпопуляции (ЦТЛ - CD8^+) статистически значимо превышало норму ($p \leq 0,01$).

Особого внимания заслуживает тот факт, что относительное количество лимфоцитов, абсолютное число CD4^{+-} и CD8^{+-} и 0-клеток у больных контрольной группы было статистически значимо, чем у пациентов основной группы ($p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$; $p \leq 0,05$; $p \leq 0,05$ соответственно).

Особого внимания заслуживает величина отношения $\text{CD4}^{+-}/\text{CD8}^{+-}$ -клеток, которую часто не совсем верно называют – иммунорегуляторным индексом (ИРИ). У больных контрольной группы после проведенного

традиционного лечения Ронколейкином® статистически значимых изменений данного показателя не установлено; как и в начале цитокинотерапии, так и по завершении ее он оставался ниже нормальных значений. Тогда как, у пациентов основной группы данный расчетный показатель достоверно возрос в 1,3 раза и достиг нормы ($p \leq 0,01$). Величина настоящего отношения менее 1,0, как это имело место у больных контрольной группы, характерна для тяжелого течения воспалительного процесса и тяжелых форм инфекционных заболеваний. Это вызывается преимущественным образованием, дифференцировкой, особенностями циркуляции в кровотоке, уходом к воспалительному очагу или в лимфатические узлы Т-лимфоцитов той или иной субпопуляции. Причем при очевидном снижении CD4⁺/CD8⁺ в случаях тяжелого течения не всегда имеется полная однозначность совпадения этого снижения со сдвигами абсолютного количества Тх. и Тц. [147, с.25-40; 26, с. 35-48].

Что касается содержания иммуноглобулинов в плазме у больных хирургическим сепсисом, то данный показатель не имеет большого диагностического значения в клинической практике, поскольку период полураспада их достаточно продолжительный, законы циркуляции в кровеносном русле сложны, а концентрация зависит не только от продукции, но и от способности сорбироваться на клетках крови [147, с.25-40; 26, с. 35-48]. Содержание суммарного количества иммуноглобулинов, как и их отдельных субклассов, обычно не коррелирует с содержанием В-лимфоцитов [250]. Только очень сильные сдвиги уровня иммуноглобулинов могут учитываться и обязательно в совокупности с другими показателями иммунограммы. Считается, что анергия моноцитов и усиление противовоспалительной активности существенно снижают синтез плазматическими клетками антител, особенно IgM [227, с.13-16].

У находившихся под нашим наблюдением больных как контрольной группы, так и основной группы по окончанию курса ронколейкинотерапии содержание иммуноглобулинов трех основных изотипов было в пределах нормы. Однако контрольной группе пациентов этот гуморальный показатель был статистически значимо выше, чем у больных основной группы IgG ($p \leq 0,01$).

Анализ результатов кислородзависимого метаболизма НГ показал, что у больных контрольной группы к моменту окончания цитокинотерапии rPL-2 традиционным способом все показатели НСТ-теста (спонтанный, стимулированный варианты и индекс стимуляции) статистически значимо увеличились по сравнению с исходными ($p \leq 0,001$; $p \leq 0,001$; $p \leq 0,001$). То же самое имело наблюдаться и у больных основной группы ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,001$; $p \leq 0,001$ соответственно). При этом величина стимулированного варианта (НСТ ст.) у пациентов контрольной группы была статистически достоверно выше, чем у больных основной группы ($p \leq 0,05$). Все это свидетельствует о напряженном функционировании окислительного метаболизма НГ, который отражает их состояние их бактерицидной активности.

Содержание ЦИК в плазме крови у больных контрольной группы после курса традиционной цитокинотерапии rIL-2 достоверно не изменилось. А в основной группе больных оно статистически значимо снизилось ниже нормального значения ($p \leq 0,05$) и было достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$). С учетом показателей НСТ-теста, можно констатировать, что у пациентов основной группы имеются признаки, свидетельствующие о постепенном купировании иммунного воспаления, и они более выражены, чем у контингента контрольной группы.

В заключение сравнительного анализа иммунограмм следует отметить большую функциональную напряженность иммунной системы у больных контрольной группы по сравнению с пациентами основной группы. К концу цитокинотерапии у больных основной группы средние значения только 3-х из 20 (15%) показателей иммунограммы отклонялись от нормальных пределов. Тогда как в основной группе больных таких несоответствующих иммунологических признаков было более чем в два раза больше - 7 (35%). По критерию χ^2 в данном случае имеет место высоко достоверное различие ($p \leq 0,001$). С учетом данных динамики основных признаков системного воспаления (SIRS) можно констатировать, что если у больных основной группы имеется тенденция к регрессу системного воспаления и выздоровлению, то у пациентов контрольной группы на этот момент SIRS еще полностью не купирована и даже имеются прогностически неблагоприятные иммунологические признаки.

Рутинные биохимические анализы крови не выявили достоверных изменений после проведенного комплексного лечения, включающего традиционную цитокинотерапию Ронколейкином®, у больных контрольной группы. В основной же группе установлено статистически значимое снижение концентрации общего билирубина в сыворотке крови ($p \leq 0,05$), а так же амилазы ($p \leq 0,01$; Т-критерий Уайта).

Факт снижения гипербилирубинемии у пациентов основной группы весьма показателен, поскольку повышение в крови уровня трансаминаз и/или билирубина – являются биохимическими маркерами поражения печени [251].

Весьма существенно так же, что применение курса лечения эритроцитарными фармакоцитами с rIL-2 привело к достоверному снижению концентрации амилазы в крови. Это важный факт, потому как среди находившихся под нашим наблюдением больных преобладали таковые панкреатогенным сепсисом, а диагностическая значимость содержания амилазы в крови при данной патологии не вызывает сомнений.

У наблюдавшихся нами пациентов обеих групп как до, так и после курса интенсивного лечения, включающего цитокинотерапию, содержание общего белка было снижено, несмотря на то, что, по данным М.И. Громова, Ронколейкин® активизирует белковосинтетическую функцию печени [128, с.17].

Объяснить это, вероятно, тем, что Ронколейкин® является иммуномодулятором, но, отнюдь, не чистым анаболиком.

Весьма существенно, что у больных основной группы зарегистрирован отчетливый гепатопротекторный эффект эритроцитарных фармакоцитов с rIL-2 , чего не было отмечено у пациентов контрольной группы. Сепсис с синдромом полиорганной недостаточности квалифицируется как «тяжелый сепсис». Нарушения иммунной реактивности при сепсисе - являются одной из главных причин поражения печени [252]. Печеночная дисфункция наблюдается у 66% больных тяжелым сепсисом [2, с.10-15], а по данным М.В. Громова и др., у 69,5% больных ангиогенным сепсисом [23, с.453-454].

Высокий гепатопротекторный эффект эритроцитарных фармакоцитов с Ронколейкином®), прежде всего, объяснить тем, что печень, ввиду наличия в ее сосудистом русле значительного количества различных типов макрофагов, является эритроциты - фагоцитирующим органом. То есть аутологичные эритроцитарные оболочки с включенным в их состав так же будут селективно накапливаться именно в печени. Причем морфо-функциональные особенности синусоидов печени, во-первых, благодаря широким межэпителиальным промежуткам и почти полному отсутствию базальной мембраны, должны способствовать прохождению фармакоцитов из сосудистого русла в паренхиму. Во-вторых, благодаря наличию на входе и выходе синусоидов специальных сфинктеров, кровотоков в них может задерживаться от нескольких минут до 10 часов [235, с.221-228]. Это значительно удлиняет возможность эритроцитарных фармакоцитов контактировать с резидентными макрофагами печени, гибель которых при сепсисе – является основным механизмом формирования так называемой «макрофагальной печеночной недостаточности» [18, с.22]. Кроме того, rIL-2 в составе аутологичных эритроцитарных оболочек в большем количестве проникает в ткани и, посредством своего свойства повышать репаративные процессы, оказывает протективный эффект в отношении гепатоцитов, т.е. препятствует развитию «гепатоцитарной или паренхиматозной печеночной недостаточности».

Оценка детоксикационного эффекта показала, что у больных контрольной группы ЛИИ после терапии Ронколейкином®, вводимым в организм обычным способом и по рекомендуемой схеме, ЛИИ статистически значимо не изменился и остался почти в 2,5 раза выше верхнего предела нормы. Тогда как у пациентов основной группы этот главный гематологический показатель интоксикации снизился до нормальных значений и был более чем в три раза меньше, чем таковой у больных контрольной группы ($p \leq 0,001$).

Сравнительным анализом степени острых функциональных нарушений, т.е. тяжести состояния больных, по шкале SAPS-M установлено, что если в контрольной группе больных сумма баллов, хотя и уменьшилась в 1,7 раза, оставалась выше нормы, то у больных основной группы она была в пределах нормы. Межгрупповое различие по данному показателю было статистически значимое ($p \leq 0,01$).

Концентрация прокальцитонина (PCT) в норме – до 0,5 нг/мл, а более 2 нг/мл свидетельствует о высокой активности инфекционного процесса и

является объективным биомаркером тяжести системного воспаления и сепсиса [253].

По завершению цитокинотерапии средняя величина содержания данного показателя в сыворотке крови у больных контрольной группы более чем в два раза превышала норму, тогда как у больных основной группы она была на 26% меньше, но также выше нормы.

Таким образом, использование в комплексной интенсивной терапии хирургического сепсиса Ронколейкина®, встроенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, значительно повышает клинико-лабораторную и иммуномодулирующую функцию названного цитокинового препарата. Причем при этом вводятся в организм малые дозы препарата ежедневно, а суммарная курсовая доза остается обычной, наиболее часто используемой в клинической практике. Это вполне согласуется с основными принципами дозированной иммунотерапии [23, с.453-454].

Не вызывает сомнений, что rIL-2 , как и все цитокиновые препараты, является лекарственным средством «последнего эшелона». Однако большие дозы экзогенных цитокинов могут нарушать цитокиновую регуляцию организма, приводя к тяжелым осложнениям, из которых наиболее серьезным является цитокиновый шок [27,28]. Поэтому рекомендуется осторожный подход к применению больших доз, особенно при использовании схем длительного их приема при различных воспалительных заболеваниях, развивающихся на фоне иммунодефицита. Поэтому более приемлемым считается назначение их в малых дозах короткими циклами, либо местно. Однако, учитывая то, что цитокины – это вещества короткодистантного действия, введение их в ткани и кровеносное русло в небольших концентрациях не способно на уровне клетки-мишени создать должную специфическую концентрацию препарата. Решению именно данной прикладной задачи было посвящено настоящее исследование.

Подводя итог результатам наших исследований в области оптимизации лечения хирургического сепсиса, позволили сделать следующие **выводы**:

1. Применение Ронколейкина®, в минимально возможных дозах, указанных сопроводительной инструкции, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки, при лечении хирургического сепсиса позволило купировать основные признаки системной воспалительной реакции (SIRS), чего не наблюдалось при обычном внутривенном введении препарата.

2. Курс иммунотерапии эритроцитарными фармакоцитами с rIL-2 статистически значимо по сравнению с его традиционным способом применением статистически значимо увеличивает количество нормальных показателей иммунограммы ($p \leq 0,001$), т.е. обладает более выраженным иммуномодулирующим эффектом при комплексной интенсивной терапии хирургического сепсиса.

3. Эритроцитарные фармакоциты с Ронколейкина® в три раза достоверно сильнее ($p \leq 0,001$), чем в у больных контрольной группы снижают величину

ЛИИ до нормальных значений, что свидетельствует о более выраженном опосредованном детоксикационном эффекте.

4. Рекомбинантный IL-2 в форме эритроцитарных фармакоцитов достоверно сильнее ($p \leq 0,01$), чем при обычном внутривенном введении уменьшает сумму баллов по шкале SAPS-M до нормальных значений, что свидетельствует о регрессе острых функциональных нарушений – синдрома полиорганной недостаточности.

5. В отличие от традиционного введения цитокинового препарата, эритроцитарные фармакоциты с Ронколейкином® достоверно снижают уровень общего билирубина ($p \leq 0,05$) и амилазы ($p \leq 0,01$) в сыворотке крови больных хирургическим сепсисом, что свидетельствует о опосредованном гепатопротекторном их действии и воздействии на купирование панкреатогенного сепсиса.

6. У больных хирургическим сепсисом, получавших rIL-2, включенным в аутологичные эритроцитарные оболочки, уровень в сыворотке крови прокальцитонина (PCT) снижается более чем на 1/4 ниже, чем у пациентов, которым данный цитокиновый препарат вводился обычным внутривенным способом, что может свидетельствовать о меньшей распространенности инфекционного процесса.

7. При лечении больных хирургическим сепсисом Ронколейкин®, включенный в аутологичные эритроцитарные оболочки в минимальной дозе (250 тыс. МЕ), при ежедневном внутривенном применении в течение 9-10 дней обладает намного большей клинико-лабораторной и иммуномодулирующей эффективностью, чем традиционное применение препарата (по 500 тыс. МЕ) в аналогичной суммарной курсовой дозе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В комплексной интенсивной терапии сепсиса рекомендуется применение Ронколейкина, включенного в аутологичные эритроцитарные оболочки в разовой/суточной дозировке 250 тыс. ЕД в течение 10 дней.

Для оценки эффективности проводимой консервативной терапии и прогнозирования развития инфекционных осложнений различных хирургических заболеваний рекомендуется определение показателей и гуморального иммунитета в начале и после лечения препаратом ронколейкин: определить иммуноглобулины и абсолютное и относительное содержание всех субпопуляции лимфоцитов, Т- и В- лимфоцитов периферической крови, активных Т- лимфоцитов. Определение состояние статуса иммунной системы рекомендуется проводить при поступлении больных в стационар и перед выпиской на амбулаторное лечение, интервал в среднем должен составлять 10 дней.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Толстой А.Д. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый с тол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 447-456.
- 2 Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. – Изд. 2-е. - Санкт-Петербург: Диалект, 2008. – 296 с.
- 3 Светухин А.М., Жуков А.О. Хирургический сепсис – основные аспекты проблемы // Избранный курс лекций по гнойной хирургии / под.ред. В.Д. Федорова, А.М. Светухина. – М., 2010. - С. 233-246.
- 4 Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J. et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care // Crit. Care Med. – 2001. – Vol. 29 (7). – P. 1303-1310.
- 5 Гельфанд Б.Р., Руднов В.А., Проценко Д.Н. и др. Сепсис: определение, диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия // Инфекция в хирургии. – 2004. - № 2 (2). – С. 2-17.
- 6 Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика // Практическое руководство. – М., 2006. – 172 с.
- 7 Егорова В.Н., Смирнов М.Н. Новые возможности иммунотерапии с использованием Ронколейкин – рекомбинантного интерлейкина-2 человека // TerraMedica. – 1999. - №2. - С.15-17.
- 8 Закревская А.В., Березина Л.А., Куляшова Л.Б.Использование Ронколейкина при лечении гнойных инфекций // Мед.иммунология. - 1999. - Т.1, №34.- С. 122.
- 9 Попович А.М. Достижения и перспективы клинического применения Ронколейкина® при лечении иммунодефицитов различной этиологии // Эффективность Ронколейкина® (интерлейкина-2) при лечении иммунодефицитов различной этиологии (В рамках VII Всерос. форума с междунар. участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» им. акад. В.И. Иофе). – СПб 2003.
- 10 Черных Е.Р., Останин А.А. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый с тол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 447, 451,454,456.
- 11 Гринев М.В., Громов М.И., Комраков В.Е. Хирургический сепсис. – М., 2001. – С. 221,350.
- 12 Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Толстой А.Д. Патогенетическая иммуноориентированная терапия при тяжелой хирургической патологии // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, №2. - С. 45.
- 13 Козлов В.К. Цитокинотерапия в комплексном лечении тяжелой хирургической и инфекционной патологии // Успехи клинической иммунологии и аллергологии / под ред. А.В.Караулова. - М.: Регион. отд.РАЕ, 2002. - Т. 3. - С. 242-262.

- 14 Ансимов А.Ю. Иммунология Ронколейкином® в комплексном лечении больных с абдоминальным сепсисом: пособие для врачей. - Казань, 2004. – 28 с.
- 15 Егорова В.Н., Попович А.М. Ронколейкина®. Опыт применения в хирургии и реаниматологии. – Спб.: Изд-во «Альтернативная полиграфия», 2004. – 48 с.
- 16 Игонин А.А., Кулес В.Г., Пальцев М.А. Сепсис: молекулярные механизмы системного воспаления в качестве модели для изучения перспективных терапевтических мишеней // Мол. Медицина. - 2004. - №2. - С. 3-12.
- 17 Козлов В.К. Иммунопатогенез сепсиса. Алгоритмы диагностики по параметрам иммунной дисфункции // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2009. - № 1 (14). – С. 1-10.
- 18 Чернов В.Н., Мареев Д.В. К вопросу о патогенезе абдоминального сепсиса // Мед.вестн. Сев. Кавказа. – 2010. – Т. 20, № 4. – С. 20-23.
- 19 Айдархан У.Т. Эритроцитарные фармациты с ронколейкином в комплексном лечении больных острым деструктивным панкреатитом: автореф. ... маг. – Астана, 2016. – 18 с.
- 20 Козлов В.К. Возможности современной иммунотерапии // Матер.3-ей науч.-практ.конф. «Современные методы лечения и диагностики иммунотерапии». - Самара, 2001. - С.14-15.
- 21 Козлов В.К. Ронколейкин®: биологическая активность, иммунокорригирующая и клиническая эффективность. – СПб.: Изд. СПб. ун-та, 2002.- С. 81,86.
- 22 Габибов А.Г. Рекомбинантные антитела и рекомбинантные белки – лекарства пролонгированного действия // Научные основы эффективности и безопасности лекарственных средств: Науч. сессия Общего собр. членов РАН. – М., 2015. – С. 81-92.
- 23 Громов М.И. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 449,453,454,457.
- 24 Костюченко А.Л., Бельских А.Н., Тулупова А.Н. Интенсивная терапия послеоперационной раневой инфекции и сепсиса. – СПб.: Фолиант, 2000. - 204 с.
- 25 Толстой А.Д., Сопия Р.А., Андреев М.И. Эффективность Ронколейкина® при остром деструктивном панкреатите // Терапия иммунодефицитных состояний. – СПб., 2000. – С. 4-7.
- 26 Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). – М.: Мед.книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 443 с.
- 27 Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999.
- 28 Брискин Б.С. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 449,454,455.
- 29 Новиков Д.К. Обоснование и принципы иммунокорригирующей терапии и иммунореабилитации // Эффективность Ронколейкина® (интерлейкина-2) при лечении иммунодефицитов различной этиологии (В

рамках VII Всерос. форума с междунар. участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» им. акад. В.И. Иофе). – СПб, 2003.

30 Angus D.C., Wax R.S. Epidemiology of sepsis: an update // *Crit.care Med.* – 2001. – Vol. 29, suppl. 7. – P. 109-116.

31 Стручков В.И., Гостищев В.К., Стручков Ю.В. Общая и местная гнойная инфекция // *Вестн. АМН СССР.* – 1983. - №8.- С. 34-37.

32 Harris R.L., Muster D.M., Bloom K. et al. Manifestations of sepsis // *Arch. Intern. Med.* – 1987. – Vol. 147. – P. 1895-1906.

33 Нечаев Э.А., Ревский А.К. Огнестрельный сепсис // *Хирургия.* – 1993. - № 3. – С. 27-31.

34 Светухин А.М., Карлов В.А., Жуков А.О. и др. Ключевые вопросы патогенеза сепсиса // *Хирургия.* – 1992. - № 7-8. – С. 8-12.

35 Giedlin M.A., Zimmerman R.J. The use recombinant human interleukin-2 in infectious diseases // *Current Opinion Biotech.* – 1993. – Vol. 4. – P. 722-726.

36 Костюченко А.Л. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // *Мед.иммунология.* – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 449,450,452,453,456.

37 Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Зайнутдинов Ю.Г., Стрельцова Е.И., Овечкин А.В., Черных Е.Р. Хирургический сепсис. Иммунологические маркеры системной воспалительной реакции // *Вестник хирургии.* – 2002. – Т.161, №3, ч. 1. - С.101-107.

38 Черных Е.Р., Курганова Е.В., Сенюков В.В. и др. Цитокин-зависимые механизмы Т-клеточных дисфункций при хирургическом сепсисе // *Цитокины и воспаление.* – 2005. – Т. 4, № 2.-С. 45-53.

39 Рожков А.С., Лебедев В.Ф., Кобиашвили М.Г. Сепсис // *Избранные вопросы терапии инфекционных больных / под общ.ред. Ю.В. Лобзина.* - СПб.: Фолиант, 2005. – С. 855-879.

40 Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Пальцев А.В., Останин А.А. Цитокиновый баланс в патогенезе системного воспалительного ответа: новая мишень иммунотерапевтических воздействий при лечении сепсиса // *Медицинская иммунология.* – 2001. - Т.3, № 3. - С. 415-429.

41 Teodorczyk-Injeyan J.A., McRitchie D.I., Peters W.J. et al. Expression and secretion of IL-2 receptor in trauma patients // *Ann. Surg.* – 1990. – Vol. 212. – P. 202-208.

42 Granowitz E.V., Santos A.A., Poutsiaika D.D. et al. Production of interleukin-1-receptor antagonist during experimental endotoxemia // *Lancet.* – 1991. – Vol. 338, №8780. – P. 1423-1424.

43 Cunnion R.E. Clinical trials of immunotherapy for sepsis // *Crit. Care Med.* – 1992. – Vol. 20. – P. 721-723.

44 Кетлинский С.А. Перспективы клинического применения рекомбинантных цитокинов // *Вестн. РАМН.* – 1993. - № 2. - С. 11-18.

45 Пивоварова Л.П., Арискина О.Б., Гуйда О.Г. и др. Интегральная оценка иммунного статуса у больных с шокогенной травмой и способы ее коррекции // *Метод.рекоменд.– СПб.,1998.* – 20 с.

- 46 Козлов В.К. Ронколейкин: биологическая активность, иммунотерапии для практикующего врача. – СПб.: Изд. «Диалог», 2002. – С. 166-196.
- 47 Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса: Пособие для врачей. – СПб.: Ясный свет, 2002. – 48 с.
- 48 Оруджева С.А., Звягин А.А. Септический шок // Избранный курс лекций по гнойной хирургии / под.ред. В.Д. Федорова, А.М. Светухина. – М., 2010. - С. 273-294.
- 49 Стяжкина С.Н., Бахшалиева У.Ф., Горбунов Е.Н. и др. Применение Ронколейкина® при сепсисе (с клиническим примером) // VIII Междунар. студ. электрон.научн. конф. «Студенческий научный форум» -2016 // <http://www.scienceforum.ru/2016/2117/25638>.
- 50 Мишнев О.Д., Щеголев А.И., Лысова Н.Л. и др. Печень и почки при эндотоксемии. - М.: РАМН, 2003.
- 51 Останин А.А., Черных Е.Р. Эффективность комплексном лечении хирургических инфекции: пособие для врачей.- СПб.: изд. С.-Петербур. ун-та, 2001,- 28 с.
- 52 Карлов В.А. Направленная иммунокоррекция в комплексном лечении хирургического сепсиса: автореф ... док. мед. наук. – М., 1986. – 38 с.
- 53 Dahn M.S., Whitcomb M.P., Lange M.P., Jacobs L.A. Altered T-lymphocyte subsets in severe sepsis // *Am. Surg.* – 1988. – Vol. 54. – P. 450-455.
- 54 Светухин А.М. Клиника, диагностика и хирургическое лечение хирургического сепсиса: автореф. ... док. мед. наук. – М., 1989. – 36 с.
- 55 Малиновский Н.Н., Решетников Е.А., Шипилов Г.Ф., Цибин В.И. Диагностика и лечение сепсиса // *Хирургия.* – 1992. - № 7. – С. 3-8.
- 56 Спас В.В., Парфенов А.Н., Адонкин Ф.С., Рукша Т.В. Некоторые иммунологические показатели у больных сепсисом и их изменения под влиянием комплексной интенсивной терапии // *Анест. и реаниматол.* – 1992. - № 2. – С. 41-43.
- 57 Косоногов Л.Ф., Родионов В.Н. Влияние гемосорбции и гипербарической оксигенации на иммунологический статус при остром сепсисе // *Эндогенные интоксикации: Тез. междунар. симп. (14-16.06.94 г.).* – СПб., 1994. – С. 124-125.
- 58 Пивоварова Л.П. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // *Мед. иммунология.* – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 451,453,454,456,457.
- 59 Петров С.В. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // *Мед. иммунология.* – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 449,450-452,454,456.
- 60 Munoz C., Carlet J., Fitting C. et al. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis // *J. Clin. Invest.* – 1991. – Vol. 88. – P. 1747-1754.
- 61 Кулибаба Д.М. Токсико-септический шок при перитоните: автореф. ... док. мед. наук. – СПб., 1998. – 43 с.
- 62 Dofferhoff A.S., Bom V.J., Vries-Hospers H.G. et al. Patterns of cytokines, plasma endotoxin, plasminogen activator inhibitor, and acute-phase proteins during

the treatment of severe sepsis in humans // *Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 20. – P. 185-192.

63 Козлов В.К. Сепсис: иммунные дисфункции в патогенезе сепсиса. Возможности диагностики // *Укр. журн. эксперим. мед.* – 2005. – Т. 6, № 1. – С. 19-25.

64 Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* -2002.- №2 (8).- С.12-22.

65 Козлов В.К. Дисфункции иммунной системы и патогеническая иммуноориентированная терапия цитокинами // *Цитокины и воспаление.* – 2002. – Т. 1, №2. - С.34.

66 Гусев Е.Ю., Осипенко А.В. Иммунология системного воспаления Иммунология Урала. - 2001. - №1(1). - С. 4-8.

67 Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А.и др. Варианты развития острого системного воспаления // *Цитокины и воспаление.* - 2008. - Т.7, №2. - С. 9-17.

68 Bone R.S. The Systemic inflammatory responses syndrome (SIRS) // In: *Clinical trials for the treatment of sepsis / ed. by Sibbald W.J., Vincent J-L.* – MedLine, 1995. –P. 4-12.

69 Норкин М.Н., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тюрин И.Н., Останин А.А., Черных Е.Р. Роль апоптоза и анергии Т-клеток в патогенезе гнойно-септических заболеваний // *Медицинская иммунология.* – 2000. – Т.2, №1. - С.35-42.

70 Останин А.А., Зайнутдинов Ю.Г., Стрельцова Е.И., Овечкин А.В., Агеев Н.Л., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Черных Е.Р. Хирургический сепсис. Сообщение 2. Эффективность иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 // *Вестник хирургии.* – 2002. – Т. 161, №4. - С. 79-84.

71 Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Шевела Е.Я., Курганова Е.В., Черных Е.Р. Изменение цитокинового баланса при развитии и утяжелении системной воспалительной реакции у больных с хирургической инфекцией // *Медицинская иммунология.* – 2003. –Т. 5, №3-4. - С. 438-439.

72 Ребенок Ж.А. Септические заболевания - сепсис: природа болезни // VI Российский съезд врачей-инфекционистов: материалы съезда. – СПб., 2003. - С. 319-320.

73 Стяжкина С.Н., Бахшалиева У.Ф., Горбунов Е.Н. и др. Применение Ронколейкина® при сепсисе (с клиническим примером) // VIII Междунар. студ. электрон.научн. конф. «Студенческий научный форум». – Москва, 2016.

74 Lefler A.M., Muller H.F., Smith J.B. Pathophysiological mechanisms of sudden death by platelet activating factor//*Br. J. Pharmacol.* – 1984. – Vol. 12. – P. 975-977.

75 Braquet P., Touqui L., Shen T.Y., Vargaftig B.B. Perspectives in platelet-activating factor research // *Pharmacol.Rev.* – 1987. – Vol. 39. – P. 97-145.

76 Kurt-Jones E.A., Fiers W., Pober J.S. Membrane interleukin 1 induction on human endothelial cells and dermal fibroblasts // *J. Immunol.* – 1987. – Vol. 139. – P. 2317-2324.

77 Tracey K.J., Lowry S.P., Cerami A. Cachectin/TNF-alfa in septic shock and septic adult respiratory syndrome // *Am. Rev. Resp. Dis.* – 1988. – Vol. 138. – P. 1377-1379.

78 Pruzanski W., Vadas P. Interleukin-6 and phospholipase A2 in sepsis // *Blood.* – 1990. – Vol. 75. – P. 1897-1898.

79 Dinarello C.A., Cannon J.G., Wolff S.M. New concepts on the pathogenesis of fever // *Rev. Infect. Dis.* – 1988. – Vol. 10. – P. 168-189.

80 Butler L.D., Layman N.K., Cain R.L. et al. Interleukin 1-induced pathophysiology: induction of cytokines, development of histiopathologic changes, and immunopharmacologic intervention // *Clin. Immunol. Immunopathol.* – 1989. – Vol. 53. – P. 400-421.

81 Petrak R.A., Baik R.A., Bone R.C. Prostaglandins, cyclooxygenase inhibitors, and thromboxane synthetase inhibitors in the pathogenesis of multiple systems organ failure // *Crit. Care Clin.* – 1989. – Vol. 5. – P. 303-314.

82 Останин А.А., Леплина О.Ю., Шевела Е.Р. и др. Оценка цитокинового профиля у больных с тяжелым сепсисом методом проточной флюориметрии (Bio-Рлех-анализа) // *Цитокины и воспаление.* – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 20-27.

83 Малыш И.Р., Козлов В.К., Згржебловская Л.В. Профиль цитокинов в динамике посттравматического периода у пострадавших с тяжелой травмой // *Укр. журн. эксперим. медицины.* – 2005. – Т. 6, № 3. – С. 66-77.

84 Choudry M.A. et al. Prostaglandin E2 down regulation of T cell IL2 production is independent of IL10 during gram-negative sepsis. - *Pubmed-Medline*, 1999. – P. 10232394.

85 Jonson R.B.Jr. Monocytes and macrophages // *N. Engl. Med.* – 1988. – Vol. 318. – P. 747-752.

86 Faist E., Schinkel C., Zimmer S. Inadequate interleukin-2 synthesis and interleukin-2 messenger expression following thermal and mechanical trauma in humans is caused by defective transmembrane signaling // *J. Trauma.* – 1993. – Vol. 34, №6. – P. 846-853.

87 Williams M.A., While S.A., Miller J.J. et al., Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induces activation and restores respiratory burst activity in monocytes from septic patients // *J Infect Dis.* - 1998. - №177 (1). – P.107-115.

88 Zellweger R., Wichmann M.W, Ayala A. et al. Prolactin: A novel and safe immunomodulating hormone for the treatment of immunodepression following severe hemorrhage // *J Surg Res.* - 1996. - №63. – P. 53-58.

89 Van der Poll T., Van Deventer S.J.H. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis // *Infect Dis Clin North Am.* – 1999. - №13. – P. 413-426.

90 Chung C.S., Yang S.L., Song G.Y. et al. Inhibition of FAS signaling prevents hepatic injury and improves organ blood flow during sepsis // *Surgery.* - 2001. - №130. – P. 339-345.

- 91 Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Смирнов М.Н. Дрожжевой рекомбинантный интерлейкин-2 человека клиническая и иммунологическая эффективность. Использование в медицинской практике // Сб.: «Успехи клинической иммунологии и аллергологии» / под ред. А.В. Караулова. – М.: изд. Регионального отделения РАЕН, 2002. – Т.3. – С. 280-300.
- 92 Boubnova N., Smirnov M., Petrov S. Clinical applications of Roncoleukin (interleukin-2) // Abstracts of 5th scientific meeting of European Society of Chemotherapy and Infectious Diseases. - Saint-Peterburg, 1997. - P.36.
- 93 Акинчиц Л.Г., Бубнова Н.А., Храмцова Ю.В., Полутин А.В. Анаэробная инфекция при сепсисе // Матер. научно-практ. конф. «Актуальные проблемы гнойно-септических инфекций». – СПб., 1996. - С. 5-6.
- 94 Shalaby M.R., Aggarwal B.B., Rinderknecht E. et al. Activation of human polymorphonuclear neutrophil functions by interferon-gamma and tumor necrosis factors // J.Immunol. - 1985. - №135. – P. 2069-2073.
- 95 Young L.S. Gram-negative sepsis // Principles and Practices of Infectious Diseases. - 3d ed. - New York: Churchill Livingstone, 1990. – P. 611-636.
- 96 Docke W.D., Randow F., Syrbe U. et al. Monocyte deactivation in septic patients. Restoration by IFN-gamma treatment // Nature Med. - 1987. - №3. – P. 678-681.
- 97 Levi M., Van der Poll., Hack C.E. et al. Effect of a recombinant dimeric tumor necrosis factor receptor on inflammatory responses to intravenous endotoxin in normal humans // Blood. - 1997. - №89. – P. 3727-3734.
- 98 Balakrishnan V., Philip M. Cytokines as predictors of severity in acute pancreatitis // J Gastroenterol Hepatol. -1998. - №13. –P. 1177—1779.
- 99 Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger // J Leukoc Biol.- 2007. - № 81. – P. 1—5.
- 100 Matute-Bello G., Liles W.C., Radella F. et al. Neutrophil apoptosis in the acuterespiratory distress syndrome // Am. J. Resp. Crit. CareMed. – 1997. – Vol. 156. – P. 1969.
- 101 Martin T.R., Nakamura M., Matute-Bello G. The role of apoptosis in acute lung injure // Int. CareMed. – 2003. – Vol. 31, suppl. 2. – P. 184-187.
- 102 Fry D.E. Multiple organ failure // Surg. Clin. Noth Amer. – 1988. – Vol. 68. – P. 107-122.
- 103 Baue A.E. Multiple organ failure, multiple organ dysfunction syndrome, and systemic inflammatory response syndrome/ - Why no magic bullets? // Arch. Surg.. – 19976. – Vol. 132. – P. 703-707.
- 104 Ефименко Н.А., Гучев И.А., Сидоренко С.В. Инфекция в хирургии. Фармакотерапия и профилактика. – Смоленск, 2004. – 296 с.
- 105 Руднов В.А. Сепсис: современный взгляд на проблему // Клин.антимикробн. химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 2-7.
- 106 Tilg H., Shapiro L., Vannier E. et al. Induction of circulating antagonists to IL-1 and TNF by IL-2 administration and their effects on IL-2-induced cytokine production in vitro // J. Immunol. – 1994. – Vol. 152. – P. 3189-3198.

- 107 Winkelhake I.L., Jauny S.S. Human recombinant Interleukin-2 as an experimental therapeutic // *Pharmacol. Rev.* – 1990. – Vol. 42, № 1. – P. 1-29.
- 108 Мамонтов В.В. Диагностика и лечение острого панкреатита с применением современных технологий (эксперим.-клинич.исслед.): автореф. ... док. мед.наук. - Омск, 2001.- 39 с.
- 109 Толстой А.Д., Панов В.П., Красногоров В.Б. и др. Паранепанкратит. Этиология, патогенез, диагностика, лечение. - СПб.: Ясный свет, 2003. – 256 с.
- 110 Жибурт Е.Б. и др. Определение аллоантиэритроцитарных антител у доноров и реципиентов гемокомпонентов // *Анналы хирургической гепатологии.*-1998.-Т.3. – С.338.
- 111 Sedlacek H.-H., Moroy I. Immune reactions: 15-21. – Springer; Veglag Berlin Heidelberg, 1995.
- 112 Balkwill F.R. (editor). Cytokine Cell Biology // *A Practical Approach.* - 3rd edition. - Oxford University Press, 2001.
- 113 Егорова В.Н., Смирнов М.Н. Ронколейкин - новые возможности иммунотерапии // *МФБ (медицина, ветеринария, фармация).* – 2000. - №7. - С.89.
- 114 Stotter H., Custer M.C., Bollon E.S. et al., IL-7 induces human lymphokine activated killer cell activity and is regulated by IL-4 // *J.Immunol.* - 1991. - №146. – P. 150-155.
- 115 Щербак С.Г., Никифоров А.М., Кетлинский С.А., Калинина Н.М., Симбирцев А.С., и др. Опыт применения цитокиновых иммуномодуляторов при вторичных иммунодефицитных состояниях // *Мат. 3-ей межд. конф. "СПИД, рак и родственные проблемы".* – СПб., 1995. - С. 45.
- 116 Егорова В.Н., Толстой А.Д., Андреев М.И., Смирнов М.Н. Иммунотерапия с использованием Ронколейкин® в комплексном лечении острого панкреатита // *TerraMedica.* – 1999. - №3. - С.28-30.
- 117 Faist E., Mewes A., Baker C.C. et al. Prostaglandin E2 dependent suppression of interleukin 2 (IL-2) production in patients with major trauma // *J. Trauma.* –1987. – Vol. 27, №2.– P. 837-849.
- 118 Ahrenholz P.H. Necrotizing soft-tissue infection // *Surg. Clin. North Am.* – 1988. – Vol. 68. – P. 199-214.
- 119 Debets J.M., Kampmeijer R., Van der Linden M.P. et al. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients // *Crit. CareMed.* – 1989. – Vol. 17. – P. 489-494.
- 120 Breslin R.J., Madden H.P., Wasserkrug H.L., Effron G., Barbul A. Simulation of T-cell immunity by arginine enhances survival in peritonitis // *J Surg Res.* - 1988. - №44. – P. 658-663.
- 121 Brown J., Grosso M., Harken A. Cytokines, sepsis and the surgeon // *Surg. Gynecol. Obstet.* – 1989. – Vol. 169. – P. 568-572.
- 122 Вядро М.М. Цитокины и их роль в патогенезе и терапии инфекций // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1990. – Т. 35, № 9. – С. 12-14.

123 Старченко А.А., Комарец С.А., Димитрюк С.В. Иммуноterapia в анестезиологии и хирургии: справочник по иммунотерапии для практикующего врача. - СПб: Изд. "Диалог", 2002. - С. 353-371.

124 Chong R.T. Prophylactic administration of IL2 protect mice from lethal challenge with gram-negative bacteria // Infect. Immunol.-1987.- Vol.56.- P.668-673.

125 Козлов В.К., Смирнов М.Н., Егорова В.Н. и др. Коррекция иммунореактивности рекомбинантным IL-2: пособие для врачей - СПб.: Изд. СПб ун-та, 2001. - 21 с.

126 Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis // Crit. Care Med. - 1992. - Vol. 20. - P. 864-874.

127 Гринев М.В., Громов М.И., Цибин Ю.Н., Тарелкина М.Н., Широков Д.М., Пивоварова Л.П., Разумова Н.К., Масиянская Т.И., Арискина О.Б., Гуйда О.Г. Интерлейкин-2 в комплексной детоксикационной терапии хирургического сепсиса // Анестезиология и реаниматология. - 1994. - №67. - С.25-28.

128 Громов М.И., Пивоварова Л.П., Тарелкина М.Н., Разумова Н.К., Масиянская Т.И., Широков Д.И., Цибин Ю.Н., Гринев М.В., Бубнова Н.А., Тоне Р.В., Шляпников С.А., Смирнов М.Н., Хромов-Борисов Н.Н. Ронколейкин - новое средство для лечения иммуносупрессий при сепсисе // Матер. 4-ой науч.конф. «Нейроиммунология, нейроинфекции, нейроимидж». - СПб., 1995. - С.16-17.

129 Deehan D.J. et al. Modulation of the cytokine and acute-phase response to major surgery by recombinant interleukin-2 // Br.J. Surg. - 1995. - Vol. 82. - P.86-90.

130 Петров С.В., Фионик О.В., Крылов А.А., Семенов А.Ю., Морозов Д.А. Клиническая эффективность применения препарата Ронколейкин у септических больных // Матер. научно-практ.конф., "Гнойные заболевания и инфекционные осложнения в хирургии". - СПб., 1997. - С. 45-46.

131 Шляпников С.А., Бубнова Н.А., Ерюхин И.А. Принцип цитокиновой терапии сепсиса синдрома // Вестник хирургии имени. - 1997. - Т. 156, №2. - С.51-54.

132 Shlyapnikov S.A., Lebedev V.F., Rybkin A.K. Cytokine therapy for traumatic sepsis syndrome // Abstracts of 5th scientific meeting of Society of Chemotherapy and Infectious Diseases. - Saint-Peterburg, 1997. - P.59.

133 Смирнов М.Н., Гринев М.В., Громов М.И., Тарелкина М.Н., Пивоварова Л.П., Широков Д.М., Разумова Н.К. Цитокиновая терапия хирургического сепсиса Ронколейкином // Тезисы докл.V Росс. нац.конгр."Человек и лекарство". - М., 1998. - С.197.

134 Totolian A., Galkina O., Zueva Ye., Petrov S., Smirnov M., Alekseeva E., Aleshina L., Buravtsova., Molchanova N. Clinical and immunological effects of IL-2 (Roncoleukin) therapy in patients with surgical sepsis (the double-blind study results) // Proceeding of 6th International Expert Forum on Immunotherapy and Gene Therapy. - Florence, 1998. - P.60.

135 Лазанович В.А., Смирнов Г.А., Маркелова Е.В., Силич Е.В., Семехин А.И., Корявченкова И.В. Ронколейкин в лечении септических больных // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2, №2. - С. 224.

136 Шевченко С.М. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый стол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 450,452,453,457.

137 Агеев Н.Л., Шамрай Н.А., Овечкин А.В., Захарова Н.А., Стрельцова Е.И., Леплина О.Ю., Черных Е.Р., Останин А.А. Ронколейкин® в лечении больных с гнойно-хирургической патологией: предварительные результаты рандомизированных, двойных-слепых, плацебо-контролируемых клинических испытаний // Медицинская иммунология. – 2001. - Т. 3, №2. - С. 301.

138 Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Егорова В.Н., Лебедев М.Ф. Коррекция иммунокореактивности рекомбинантным интерлейкином – 2: пособие для врачей. – СПб.: Изд. СПбГУ, 2001. – 24 с.

139 Пат. SUN 1770359 Рекомбинантная плазмидная ДНК рJDB (MSIL), обеспечивающая синтез интерлейкина – 2 человека в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, способ ее получения и штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – продуцент интерлейкина- 2 человека / Мясников А.Н., Смирнов М.Н., Авот А.Я., Грен Э.Я., Романчикова Н.В. и Цимание А.Ю. Дата приоритета 24.03.92.

140 Smirnov M.N., Khromov-Borisov N.N. Roncoleukin- human interleukin - 2 from recombinant yeast: its manufacturing and clinical features // Intern. J. Immunorehabilitation. -1994. - №1.- P.331-332.

141 Смирнов М.Н., Егорова В.Н. Ронколейкин - эффективный иммуномодулятор для лечения иммунодефицитов различной этиологии // Тезисы докладов ШРосс. Нац. конгр. " Человек и лекарство". – М., 1997. - 294 с.

142 Тотолян А.А. Иммунологические эффекты Ронколейкина *in vitro* и *in vivo* // Иммунология. – 1998. - №6. -С. 45-46.

143 Егорова В.Н., Летягина О.В., Смирнов М.Н. Ронколейкин – рекомбинантный интерлейкин-2 человека – эффективное средство коррекции иммунодефицитов // Тезисы докл. V Росс.нац.конгр. «Человек и лекарство». – М., 1998. - 486 с.

144 Козлов В.К., Лебедев М.Ф. Дисфункции иммуноактивности и принципы их коррекции рекомбинантным интерлейкином-2 (Ронколейкином) // Актуальные вопросы клинической медицины. - М.: Изд. Регионального отделения РАЕН, 2001. – С. 23-25.

145 Николаева З.К., Егорова В.Н., Козлов В.К. Ронколейкин-рекомбинативный фармакология и биологическая активность: пособие для врачей. - СПб.: Изд. С.-Петербур. ун-та, 2002. – 40 с.

146 Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Егорова В.Н. Коррекция дисфункций иммунной системы Ронколейкином® // TerraMedica. – 2001. - №2. - С.12-14.

147 Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. – М.: Наука, 1990. – 224 с.

148 Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. и др. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 38-45.

149 Powrie F., Menon S., Coffman R.L. Interleukin-4 and interleukin-10 synergies to inhibit cell mediated immunity in vitro // Eur. J. Immunol. — 1993. — Vol. 23, № 11. — P. 3043-3049.

150 Петров С.В., Бубнова Н.А., Прокофьева М.В., Галкина О.В., Смирнов М.Н. Коррекция Ронколейкином иммунного статуса в раннем послеоперационном периоде у больных перитонитом // Тезисы докл. V Росс.нац.конгр."Человек и лекарство".- М., 1998. - 516 с.

151 Козлов В.К., Лебедев М.Ф., Егорова В.Н. Дисфункции иммунной системы и принципы и их коррекции Ронколейкином. Актуальные вопросы базовой и клинической фармакологии // Омский научный вестник. – 2002. - Вып. 18. - С. 79-83.

152 Смирнова Н.В., Гильман А.З., Тусинова С.А., Цеханович К.Б. Применение ронколейкина в хирургической практике // Медицинский академический журнал.- 2003. – Т. 3, №2. - С.89.

153 Пат. 95104171/14(008123) Способ лечения иммуносупрессии при сепсисе у человека / Цибин Ю.Н., Громов М.И., Пивоварова Л.П., Разумова Н.К., Тарелкина М.Н., Масиянская Т.И., Широков Д.М., Бубнова Н.А., Тонэ Р.В., Шляпников С.А., Смирнов М.Н., Хромов-Борисов Н.Н.; опубл. 28.03.95.

154 Карашуров Е.С., Барыкин М.Ю., Янцев И.В., Асалия К. Ронколейкин в лечении сепсиса // Матер. III научно-практ.конф.хирургов Северо-Запада России и XXIV конф.хирургов Республии Карелия.- СПб, 2001. –Т.2. - С.76-77.

155 Petrov S.V., Totolyan A.A., Bubnova N.A., Galkina O.V., Zueva E.E., Prokofyeva M.V., Tone R.V., Smirnov M.N. Clinical and immunological effects of il-2 (Roncoleukin) in patients with surgical sepsis. Results of double-blind study // Abstracts of 5th scientific meeting of European Society of Chemotherapy and Infectious Diseases.- Saint-Peterburg, 1997. - P.55.

156 Петров С.В., Бубнова Н.А., Тотолян А.А., Смирнов М.Н. Иммунокоррекция Ронколейкином у больных с сепсисом и тяжелой хирургической инфекцией по результатам двойного слепого метода исследования // Тезисы докл. V Росс. нац. конгр. "Человек и лекарство". – М., 1998. - 516 с.

157 Tsybin J.N., Tarelkina M.N., Gromov M.I., Rasumova N.K., Pivovarova L.P., Bubnova N.A., Tone R.V., Shliapnikov S.A., Smirnov M.N., Khromov-Borisov N.N. Immunorehabilitation in severe trauma and surgery sepsis with the Roncoleukin (human interleukin-2 from yeast) // Intern. J. Immunorehabilitation. – 2000.- №1. -P.359-360.

158 Ребенок Ж.А. Ронколейкин - необходимый компонент успешной терапии острого сепсиса // Матер науч.конф. и VIII съезда итало-росс.

общества по инфекц. болезням "Проблема инфекции в клинической медицине". - Санкт-Петербург, 2002. - С. 286-287.

159 Якубцевич Р.Э., Спас В.В., Дорохин К.М. Клиническое течение и интенсивная терапия сепсиса у гериатрических больных // Клиническая медицина. – 2003. - Т. 81, №1. - С. 28-32.

160 Козлов В.К. Иммуноотерапия цитокинами инфекций и тяжелой хирургической патологии // Матер. науч.-практ.конф. «Этиотропные препараты в амбулаторной и госпитальной практике». - Санкт-Петербург, 2002. - С. 73-78.

161 Козлов В.К. Иммуноориентированная терапия: средства и возможности // Матер. науч.-практ.конф. «Этиотропные препараты в амбулаторной и госпитальной практике». – СПб., 2002. - С.19-26.

162 Толстой А.Д., Смирнов М.Р., Пивоварова Л.П. и др. Результаты применения Ронколейкина при остром деструктивном панкреатите // Мат. симпози. «Иммуноотерапия в хирургической практике». – СПб.: Изд-во ВМА, 1999.- С. 3-5.

163 Шевченко С.М., Нестеренко С.Н., Бурда Ю.Е., Чирвин А.Б., Долженко С.Н. Ронколейкин® (рекомбинантный интерлейкин - 2 человека) против сепсиса. Клиническая и экономическая эффективность применения малых доз // Мир медицины. -2000.- №5-6. -С. 21-23.

164 Серебряная Н.Б., Хубулава Г.Г., Снеткова И.Г. и др. Изменение иммунологических параметров у кардиохирургических пациентов при проведении терапии препаратом Ронколейкин®// Мед.иммунология. - 1999. – Т. 1, № 3-4. – С. 132-133.

165 Грегориадиса Г., Липосомы в биологических системах / под ред. А. Аллисона; пер. с англ. – М., 1983.- 124 с.

166 Провоторов В.М., Иванова Г.А. Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств // Клиническая медицина. - 2009. - № 9. - С. 4–8.

167 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Иманбаева Ю.Ш. Клетки крови как транспортные системы целенаправленной доставки лекарственных препаратов // Астана медициналык журналы. - 2011. - Т. 66, № 4. - С. 7–12.

168 Бегдуллаев А.К., Маншарипова А.Т., Джусипов А.К. и др. Проблема направленного транспорта лекарственных веществ в клинической практике // Терапевтический вестник. - 2008. - Т. 17, № 1. - С. 32–36.

169 Соснов А.В., Иванов Р.В., Балакин К.В. и др. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц // Качественная клиническая практика. - 2008. - № 2. - С. 4–12.

170 Вуймо Т.А. Эритроцит как переносчик тетрациклинового антибиотика Митоксантрон и антисемфильного препарата фактора IV системы свертывания крови «Aimafix»: автореф. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 26 с.

171 Ihler G., Glew R.H., Schnure F.W. Enzym Loading of erythrocyte // Proc. nat. Acad. Sci.USA. – 1973. - Vol. 70 . – P. 2663 – 2666.

- 172 Ihler G. Erythrocyte carriers // *Pharmacol. Ther.*- 1983. – Vol. 20. - P. 151 – 169.
- 173 Zimmermann U., Pilwat G., Rieman F. Enzyme loading of electrically homogeneous human red blood cell ghosts prepared by dielectric breakdown // *Ibid.* – 1976. –Vol.436. – P.460 – 474.
- 174 Zimmermann U., Pilwat G., Vienhen G. Development of drug carrier system: Electrical field-induced effects in cell membranes.// *Cancer Chemolmmunopharmacol.* – 1980. – Vol. 82 – P. 252 – 259.
- 175 Сипливая Г.П., Лескова И.Л., Щевцова Е.М. и др. Иммуномодулирующая активность некоторых аминогликозидов, введенных в эритроцитарных носителях // ТР. IV Рос. нац. Конгресс «Человек и лекарство». - М., 2000. – С.47 – 52.
- 176 Clarse-Pearson D.L., Coleman R.E., Siegel R. et al. Indinum Platelet Invading For the Defection of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients without after surgery. – *Surg*, 1985. – P. 98- 104.
- 177 Сарбаш В.И., Тихонова А.Г., Вуймо Т.А. и др. Эритроциты – носители лекарственных препаратов // *Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева.* – 2007. - Т. 51, №1. - С. 143-149.
- 178 Сипливая Г.П., Шевцова Е.М., Лазарева А.И., Прокопенко Л.Г. Иммуномоделирующее действие аминогликозидных антибиотиков при различных технологиях введения // *Антибиотики и химиотерапия.* - 1999.- Т. 44, №2. – С. 29-32.
- 179 Minetti M., Ceccarina M. Protein-dependent lipid lateral phase separation as a mechanism of human erythrocyte ghost resealing // *J. Cell. Biochem.* – 1982. – Vol. 19. – P. 59–75.
- 180 Генинг Т.П., Елисеева А.П., Потатуркина-Нестерова Н.И. О возможности использования замкнутых теней аутологических эритроцитов для направленного транспорта антибиотиков // *Антибиотики.* – 1985. - №2.- С.101-102.
- 181 Lunch W.E., Sartiano G.P., Ghaffar A. Erythrocytes as carries of chemotherapeutic agents for targeting the reticuloendothelial system // *Amer. J. Hemat.* – 1980. – Vol. 9. – P. 249- 259.
- 182 Hainfeld G.F., Steck T.L. The sub-membrane reticulum of the human erythrocyte: A scanning electron microscope study. // *J. Sup. Struct.* – 1977. – Vol. 6.- P. 301-311.
- 183 Kinoshita K., Tsong T.Y. Erythrocytes sub-membrane field-induced effects // *Nature.* – 1977. – Vol.268. – P. 438.
- 184 Самохин Г.П., Долисадский С.П. Направленный транспорт лекарств с помощью эритроцитов // *Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева.* – 1987. - Т. 32, №5.- С.527-533.
- 185 DeLoach J., Peters S., Pincard O. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1977. - v.496, P.507-515.
- 186 Zocchi T., Giuda L., Benatti U. et al. // *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 1987, Vol. 9. - P.507-515.

187 Zocchi T., Tonetti M., Polvani C. et al. Protein lipid analogues in erythrocytes // *Ibid.* – 1988. - Vol. 10. - P. 555-562.

188 Jordan J.A., DeLoach J.R., Luque J. et al. Targeting of mouse erythrocytes by band 3 crosslinkers // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1996. - Vol. 1291. - P. 27-34.

189 Magnani M., Rossi L., Brandi G. et al. Targeting antiretroviral nucleoside analogues in phosphorylated form to macrophages: in vitro and in vivo studies // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. - Vol. 89. - P.6477-6481.

190 Magnani M., Casabianca A., Fraternali A. et al. Synthesis and targeted delivery of an azidothymidine homodinucleotide conferring protection to macrophages against retroviral infection.// *Ibid.* – 1996. - Vol. 93. - P. 4403-4408.

191 Ihler G., Lantry A., Purpura G. et al. Enzymatic degradation of uric acid by uricase-loaded erythrocytes // *J. clin. Invest.* – 1975. – Vol. 91. – P. 595-602.

192 Marinova C., Vraska C., Panter T. Cytokine levels in human septic shock // *Stud. Biophys.* – 1982. – Vol. 91. – P. 149-154.

193 Humpreus G., Edeind T., Ihler G. Entrapment of viral vectors for recombinant DNA in erythrocytes // *J. Appl. Biochem.* – 1981. – Vol. 3.- P. 199-211.

194 Конопля А.И., Хмелевский В.И., Хмелевская И.Г. Иммуотропное действие фторхинолонов, адсорбированных на мембранах эритроцитов и включенных в эритроцитарную строму // *Морфогенез и регенерация. Сб. научных трудов, посвященной 80- летию со дня рождения проф. Давида Ароновича Сигалиевича.* – Курск: КГМУ, 1999. - С. 24-27.

195 Тайгулов Е.А., Жумадилов Ж.Ш., Мукажанов А.К. Эритроцитарные фармакоциты в гепатобилиарной хирургии. - Алматы: Медицина баспасы, 2002. – 192 с.

196 Тайгулов Е.А., Цой О.Г., Сатвалдиев С.А. Печеночная недостаточность при перитоните. - Алматы: Изд-во «Алаш», 2008. – 312 с.

197 Тайгулов Е.А. Направленный транспорт антибиотиков в аутологичных эритроцитарных телях в комплексном лечении больных острым холециститом пожилого и старческого возраста: автореф. ... канд.мед.наук. - Алма-ата, 1991.- 16 с.

198 Генинг Т.П., Мануилов К.К. Фармакокинетика антибиотика, вводимого в организм в клеточных носителях // *Антибиотики и химиотерапия.* – 1991. - №9. – С. 19-20.

199 Жумадилов А.Ш. Методы оптимизации общей анестезии и интенсивной терапии при тяжелой эндогенной интоксикации:автореф. ... канд.мед.наук. – Семей, 2000.- С. 28.

200 Баянбаев А.С. Внутрипортальная инфузионная терапия в профилактике и лечении печеночной недостаточности при остром распространенном перитоните: автореф. ... канд.мед.наук. – Астана, 2004.- С.24.

201 Ускенбаев Т.А. Сочетанное применение эритроцитарных фармакоцитов и методов декомпрессии желчевыводящих путей в лечении

больных механической желтухой: автореф. ... канд. мед. наук. – Астана, 2005. -С.23.

202 Жумадилов Д.Ш., Тайгулов Е.А., Григоревский В.П. // Эритроцитарные фармациты в комплексном лечении больных острым панкреатитом и холецистопанкреатитом: автореф. ... канд. мед. наук. – Астана, 1998. – С. 139.

203 Берикханова К.Е. Первичный шов в хирургии острого и хронического парапроктита: автореф. ... канд.мед.наук. –Семей, 2005.-С. 26.

204 Оразбаев С.Т. Применение эритроцитарных фармацитов в комплексном лечении холангита у больных стриктурами внепеченочных желчных протоков: автореф. ... канд.мед.наук.- Астана, 2007.- С.24.

205 Берикханова К.Е., Жумадилов Ж.Ш., Цой О.Г., и др. Способ усиление антибактериальной эффективности рифампицина // Астана медициналык журналы. – 2011.- №1 (63).- С. 78-80.

206 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Сатвалдиев С.А. и др. Включение ронколейкина в транспортные контейнеры на основе эритроцитов человека // Мат. Евразийского симпози. «Проблемы саногенеза и патогенного эффектов эндо- и экзозекологического воздействия на внутреннюю среду организма» по вопросам фундаментальной и прикладной медицины (посв. 80-летию акад. РАМН Ю.И. Бородина). – Чолпон-Ата, 2009. – С. 348-350.

207 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Гуляев А.Е. и др. Определение вероятности включения ронколейкина в эритроцитарные тени // Сб. матер. 51-й итоговой науч.-практич. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием. – Астана, 2009. – С. 43-44.

208 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Берикханова К.Е., Балжанов Ж.М. Оптимизация иммуноориентированной терапии рекомбинантным цитокином «Ронколейкином» при комплексном лечении острого гнойного холангита // Мат. IV Междунар. конф. «Инновационные идеи и технологии - 2011». – Алматы, 2011. – С. 318-319.

209 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Балжанов Ж.М. и др. Обоснование включения ронколейкина в эритроцитарные тени // Тез. XIV Междунар. конгр. по реабилитации и иммунореабилитации. Int. J. onImmunorehabilitation. – М.: Изд-во «Мед-Здоровье». – 2009. – Vol. 11, № 1. – С. 137-138.

210 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Балжанов Ж.М. и др. Иммунокорригирующее действие ронколейкина у больных острым холангитом при различных способах применения // Наука и здравоохранения. – 2011. - № 1. – С. 37-39.

211 Цой О.Г., Тайгулов Е.А., Балжанов Ж.М. и др. Иммуноглобулины желчи у больных острым гнойным холангитом при применении в комплексной терапии ронколейкина // Тез.XVI междунар. конгр. по реабилитации и иммунореабилитации. IVВсемирн. форума по астме и респираторной аллергии // Аллергология и иммунол. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 75.

212 Айдархан У.Т., Тайгулов Е.А., Цой О.Г., Султангереев Е.Б. Ронколейкин в комплексном лечении абдоминального сепсиса // Журнал "Астана медициналық журналы". - 2015.- №4. -С. 29-37.

213 Айдархан У.Т., Тайгулов Е.А., Цой О.Г., Султангереев Е.Б. Эритроцитарные фармакоциты с ронколейкином при лечении острого деструктивного панкреатита // Журнал "Астана медициналық журналы". – 2016. - №2. - С.202-211.

214 Назаренко Д.П. Разработка патогенетически обоснованных консервативных и хирургических способов лечения острого панкреатита: дис. ... док. мед. наук: 14.00.27. - Курск, 2006. - 320 с.

215 Гельфанд Е. Б., Гологорский., Гельфанд Б.Р. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка тяжести состояния больных и полиорганной дисфункции // Анестезиология и реаниматология. - 2000.-№3.-С.29-34.

216 Шевченко С.М., Нестеренко С.Н., Бурда Ю.Е., Чирвин А.Б., Долженко С.Н. Ронколейкин® (рекомбинантный интерлейкин-2 человека) против сепсиса. Клиническая и экономическая эффективность применения малых доз // Мир медицины. - 2000. - № 5-6. - С. 21-23.

217 Жумадилов Ж.Ш, Макаренкова Р.В. Особенности включения некоторых антибиотиков в эритроцитарные тени – системы целенаправленной доставки химиотерапевтических препаратов // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. -№11.- С. 54-56.

218 Ребенок Ж.А. Ронколейкин в иммунотерапии сепсиса (круглый с тол) // Мед.иммунология. – 2000. – Т. 2, № 4. – С. 449,451-453,456.

219 Walger P. Sepsis // Intesiv. Notfall. Behadl. – 1994. – Vol. 19, № 2. – P. 55-66.

220 Белобородова В.Б. Сепсис – современная проблема клинической медицины (1997) // РМЖ. – 2012. - №24. – С. 3.

221 Хацко В.В., Потапов В.В., Пархоменко А.В., Фоминов В.М. Использование гемодиализа, плазмафереза и новых способов детоксикации в лечении билиарного сепсиса (научный обзор) // Укр. журн. хирургии. – 2013. - № 2 (21).

222 Pinsky V., Vincent J.L., Deviere J. Serum cytokine levels in human septic shock Relation to multiple system organ failure and mortality // Chest. – 1993. – Vol. 103. – P. 565-575.

223 Перфильев Д.В. Иммунологические аспекты послеоперационного перитонита//Хирургия. – 1998. - № 12. – С. 22-24.

224 De Vrise A.S., Colardyn F.S., Philippe J.J. et al. Cytokine removal during continuous hemofiltration in septic patients // J. Am. Soc. Nephrol. – 1999. – Vol. 10 (4). – P. 846-853.

225 Нехаев И.В., Свиридова С.П., Казанова Г.В. и др. Иммунотерапия у больных с перитонитом. Перитонит / под ред. Савельева В.С., Гельфанда Б.Р., Филимонова И.М. – М.: Литера, 2006. – С. 169-176.

226 Shar Y.X., Jin S.Z., Liu Y., Lin S.Z. Ionizing radiation stimulated secretion of pro inflammatory cytokines: dose response relation slip, mechanisms and implications // *Radiat-Environ Biophys.* – 2006. – Vol. 46, №1. – P. 21-29.

227 Терещенко О.А., Боташев А.А., Помещик Ю.В. и др. Современные взгляды на лечение желчного перитонита, осложненного абдоминальным сепсисом // *Рос.журн. гастроэнтерол., гепатолог. и колопроктол.* – 2013. – Т. 23, № 6. – С. 11-19.

228 Гвоздик Т.П., Кононов В.С., Нартайлаков М.А., Ткаченко В.Н. Печеночная недостаточность при панкреатогенном сепсисе и методы ее коррекции // *Инфекция в хир.* – 2012. - № 2.

229 Тайгулов Е.А., Цой О.Г., Балжанов Ж.М. и др. Транспортная система доставки ронколейкина в составе аутологичных эритроцитарных теней в печень // *Сб. матер. 51-й итоговой науч.-практич. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием.* – Астана, 2009. – С. 308-309.

230 Алексеева И.Н., Брызгина Т.М., Павлович С.И., Ильчевич Н.В. Печень и иммунологическая реактивность. - Киев: Наукова Думка, 1991. – 168 с.

231 Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология: учебник. - М.: Медицина, 2000. – 432 с.

232 Maskay I.R. Hepatoimmunology: a perspective // *Immunol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 80, №1. – P. 36-44.

233 Горецкая М.В. Иммунорегуляторные эффекты печени // *Имунопатология, аллергология, инфектология.* – 2010. - № 2. – С. 23-33.

234 Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция // Под общей редакцией академика АМН СССР А.М. Чернуха. – М.: Медицина, 1975. – 456 с.

235 Плanelьес Х.Х. Воспаление // *Многотомное руководство по микробиол., клинике и эпидемиолог. инф. б-ней.*– М., 1964. - Т. 3. – С. 220-246.

236 Залесский Г.Д. Ревматизм и проницаемость капилляров. - Новосибирск: обл. гос. Изд., 1949. – 200 с.

237 Казначеев В.П., Дзизинский А.А. Клиническая патология транскапиллярного обмена. - М.: Медицина, 1975. - 240 с.

238 Пинчук В.М. Патологическая анатомия тяжелой ожоговой травмы: дис. ... док.мед.наук. – Л., 1964.

239 Некрашас Э.И. Проницаемость кровеносных капилляров при пептонном и травматическом шоке, осложненном лучевой болезнью: автореф. ... канд.мед.наук.- Вильнюс, 1960.

240 Петров И.Р., Васадзе Г.Ш. Необратимые изменения при шоке и кровопотере. – Л.: Медицина, 1966. – 199 с.

241 Підгірний Я.М. Плазмозферез у комплексній інтенсивній терапії гострої дисфункції міфі та реальність // *Біль. захворювання та інтенсивна терапія.* – 2007. - № 4. - С. 15-23.

242 Иоффе И.В., Потеряхин В.П. Применение плазмофереза в комплексном лечении обтурационной желтухи, обусловленной холедохолитиазом // Клин. Хірургія. – 2009. - № 3. – С. 53-56.

243 Jahannsen E.C., Sifri C.S., Lawrence C.M. Pyogenic liver abscesses//Infect. Disease Clinics of North America. – 2000. – Vol. 14. – P. 47-56.

244 Malandoni M.A. Evaluation and Management of Nertiary Peritonitis//Amer. Surg. – 2000. – Vol. 66, №2. – P. 157-161.

245 Jimenez M.F., Marshall J.C. Source control in the management severe sepsis and septic chock // Intensive Cara Med. – 2001. – Vol. 27. – P. 49-62.

246 Moore L.J. Sepsis in general surgery: deadly complication//The American J. of Surg. – 2009. – Vol. 198. – P. 868-874.

247 Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003.

248 Barnaba V., Musca A., Cordova C. et al. Relationship between T cell subsets and suppressor cell activity in chronic hepatitis B (NBV) infection // Clin. And Exp. Immunol. – 1983. – Vol. 53, №2. – P. 281.

249 Mills K.H.C., Cawer C. Abnormal monoclonal antibody-defened helper/Suppressor T cell subpopulation in multiple myeloma // Brit. J. Haematol. – 1983. – Vol. 53, №2. – P. 271.

250 Понякина И.Д. Взаимосвязи в иммунной системе // Иммунолог. – 1985. - № 6. – С. 15.

251 Денисова Е.Н. Поражения печени и острая печеночная недостаточность у больных заболеваниями системы крови // Гематол. и трансфузиол. – 2013. – Т. 58, № 2. – С. 40-46.

252 Кирилочев О.К. Клинико-диагностические критерии и стандарты терапии печеночной недостаточности у новорожденных: дис. ... док. мед. наук. – Астрахань, 2008. – 204 с.

253 Шлык И.В. Патогенез, ранняя диагностика и принципы лечения сепсиса у тяжело обожженных: дис. ... док. мед. наук. – Санкт-Петербург, 2009. – 252 с.