

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

СОГЛАСОВАНО

Заместитель начальника по
науке Главного управления
кадровой политики, учебных
заведений и науки

Н.И. Доста



14 июня 2000 г.

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель
министра здравоохранения
В.М. Ореховский



20 июня 2000 г.

Регистрационный № 42-0002

**ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА
ПРИ ПЕРИТОНИТЕ И МЕТОДЫ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

Минск 2000

Учреждение-разработчик:

Минский государственный медицинский институт

Авторы: д-р мед. наук, проф. С.И. Леонович, канд. мед. наук С.А. Алексеев, д-р мед. наук Ю.М. Гаин, канд. мед. наук А.В. Харитончик, канд. мед. наук В.В. Руденок, канд. мед. наук О.М. Кудянова, С.В. Шахрай, А.В. Луневский

Рецензенты: д-р мед. наук, проф. Л.П. Титов, д-р мед. наук, проф. С.И. Третьяк

В методических рекомендациях определены основные показатели иммунитета в норме и в условиях перитонита, иммунной системы слизистых желудочно-кишечного тракта. Дана оценка иммунологического статуса больных перитонитом с учетом фазности патологического процесса, особенности современных методов диагностики, приведены классификация иммуномодуляторов, схемы иммунокоррекции при перитоните в зависимости от имеющихся иммунных нарушений.

Предназначены для хирургов лечебных учреждений республики, широкого круга врачей практического здравоохранения, студентов старших курсов медицинских институтов.

Методические рекомендации утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь в качестве официального документа.

1. АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Проблема выбора рациональных способов комплексного лечения перитонита является актуальной и до конца нерешенной. Несмотря на достижения современной хирургии, летальность при этом грозном заболевании варьирует от 10 до 71,7% (Дмитриев Б.И. и др., 1996; Саенко В.Ф. и др., 1996; 1991; Losanoff J. et al., 1997, Петренко Т.Ф. и др., 1991; Кузнецов В.А. и др., 1997; Popescu I. et al., 1996). Еще выше показатель смертности при послеоперационном перитоните.

Трудности в лечении этого грозного заболевания в значительной степени зависят от процессов, происходящих в иммунной системе больного. Массивная антибактериальная терапия, тяжелая эндогенная интоксикация, полиорганная недостаточность, грубые метаболические сдвиги, применение (с лечебной целью) препаратов, обладающих иммунодепрессивным действием, способствуют развитию выраженных иммунных нарушений вторичного генеза в организме пациента. При этом иммунные нарушения при развитии перитонита столь часты и значимы, что без их коррекции невозможно добиться выздоровления больного.

1.1. Основные факторы иммунной системы

Иммунная система, состоящая из органов и скоплений лимфоидных клеток и биологически активных веществ организма, в настоящее время рассматривается как единая гомеостатическая система, обеспечивающая антигенную целостность организма.

Иммунный статус — качественная и количественная характеристика основных звеньев иммунитета в определенный период развития организма, период заболевания и т. д.

Сложность системы иммунитета заключается в наличии специфических и неспецифических факторов защиты как гуморальных, так и клеточных. Факторами неспецифической защиты служат нейтрофильные фагоциты, естественные киллеры, система комплемента, лизоцим, пропердин, В-лизин, хемокины, интерфероны, цитокины, иммуноглобулины.

Система комплемента представлена более чем двадцатью белками неактивных В-глобулинов плазмы. Активируясь классическим и альтернативными способами, обеспечивает опсонизацию, фагоцитоз и лизис бактерий, участвует в формировании антибактериального иммунитета и утилизации иммунных комплексов. Биологически активные фрагменты C_{3a} и C_{5a} системы комплемента оказывают хемотаксическое действие, увеличивают фагоцитарную и цитотоксическую активность, стимулируют секрецию ферментов и синтез простагландинов.

Лизоцим — низкомолекулярный фермент лизосом полиморфно-ядерных и мононуклеарных фагоцитов. Обладает выраженной бактериостатической (в основном к грамотрицательной флоре), бактерицидной (по отношению к грамположительным стафило-стрептококкам) и гидролитической активностью.

Пропердин — высокомолекулярный белок, находящийся в γ - и β -глобулинах плазмы. При взаимодействии с полисахаридами и эндотоксинами грамотрицательных микробов он приводит в действие компонент комплемента (С-3), способствуя цепному включению в иммунологический ответ каскадной реакции системы комплемента.

β -лизин — термостабильный бактерицидный фактор сыворотки крови тромбоцитарного происхождения. Проявляет свою антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий.

Активность лимфоидных клеток регулируется системой растворимых факторов — *цитокинов*. Активированные лимфоциты способны к продукции многочисленных лимфокинов (лимфоцитактивирующий фактор, интерлейкин-1 колониестимулирующий, опухоленекротизирующий фактор, интерфероны и др.). В настоящее время известно о существовании около 40 цитокинов, каждый из которых выполняет те или другие функции в процессе иммунорегуляции.

Интерлейкин-1 (ИЛ-1) вырабатывается клетками моноцито-макрофагального ряда, а также В-лимфоцитами, эпителиальными клетками, кератиноцитами и др. Молекулы ИЛ-1 рассматриваются в настоящее время как наиболее важный внутрисистемный и межсистемный медиатор, участвующий в различных инфекционных, воспалительных и иммунных процессах. Интерлейкин-2 (ИЛ-2) продуцируется активированными Т-лимфоцитами и является специфическим фактором роста для Т-клеток с хелперной, супрессорной и цитотоксической функциями естественных киллеров.

Интерфероны (ИФ) представлены группой низкомолекулярных белков, синтезируемых различными популяциями иммунокомпетентных клеток и обладающих выраженной противовирусной активностью. К настоящему времени хорошо изучено 3 их представителя: α -ИФ из лейкоцитов донорской крови, β -ИФ из диплоидных клеток человека и γ -ИФ, который синтезируется активированными Т-клетками в ответ на стимуляцию антигеном (так называемый «иммунный интерферон»). Механизм действия ИФ заключается в повышении активности эффекторных функций цитотоксических лимфоцитов, естественных киллеров, макрофагов, усилении фагоцитоза. Он может выступать в роли усиливающего фактора в каскаде лимфокинов, продуцируемых стимулированными Т-лимфоцитами.

Иммунный ответ представляет собой сложный многокомпонентный процесс специфического реагирования, осуществляемый взаимодействием основных классов клеток: антигенпрезентуемых Т- и В-лимфоцитов. Имеется два типа иммунного ответа: гуморальный и клеточный. Гуморальный ответ связан с В-системой, клеточный — с Т-системой иммунитета. Система В-лимфоцитов определяет иммунологический ответ при большинстве бактериальных инфекций, отвечает за антитоксический иммунитет, анафилаксию, аллергические реакции немедленного типа, развитие ряда аутоиммунных заболеваний. Т-система определяет иммунологический ответ организма на большинство белковых антигенов вирусных и некоторых бактериальных инфекций, отвечает за развитие аллергической реакции замедленного типа, трансплантационного и противоопухолевого иммунитета, некоторых видов иммунопатологии и старение организма. Т-система регулирует активность В-системы иммунитета. В крови человека на долю Т-лимфоцитов приходится около 75%, а В-лимфоцитов — 15% лимфоцитов. 10% представлено нулевыми клетками.

Кроме Т- и В-лимфоцитов различают также естественные киллерные клетки (ЕКК). Это поликлональная и полиспецифическая популяция лимфоцитов, реализующая цитотоксическое действие в отношении опухолевых

клеток и клеток, пораженных вирусом. Имеются данные о влиянии ЕКК на устойчивость к заболеваниям, вызываемым бактериями и простейшими.

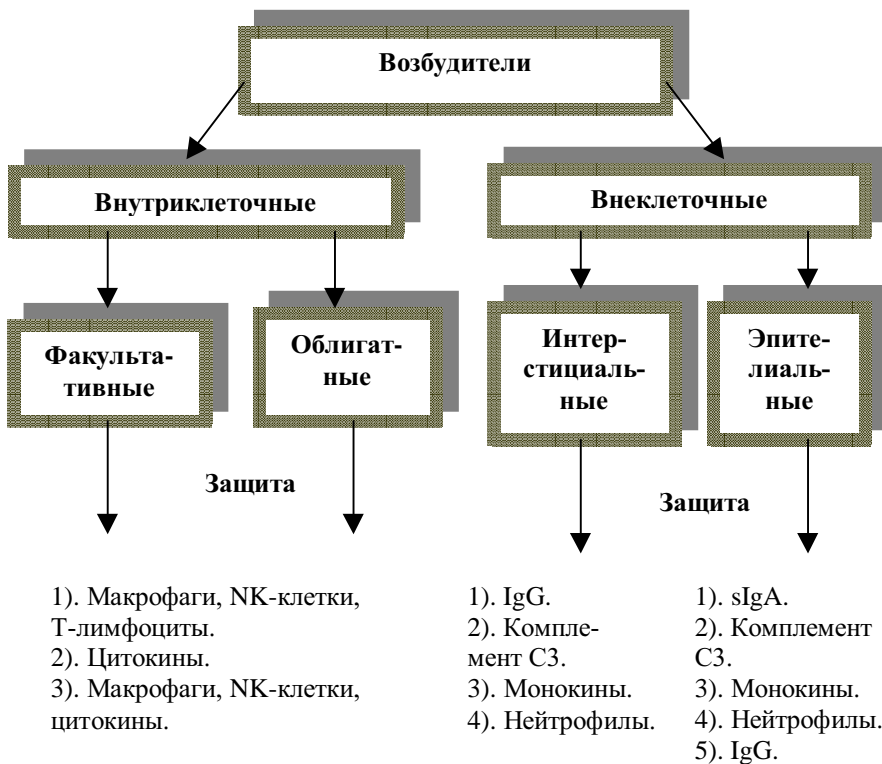
Антигенстимулированные В-лимфоциты на последней стадии дифференцировки превращаются в плазматические клетки, синтезирующие антитела-иммуноглобулины разных классов: М; G; E и D. Основную массу сывороточных иммуноглобулинов (70–80%) составляют IgG. 10–15% их представлено IgA, 5–10% — Ig M и около 0,2% — IgE и D.

IgG имеют 4 подкласса, которые играют роль в процессах противоинфекционной защиты, десенсибилизации и аллергии. Биологическая функция IgA, представленного сывороточной и секреторной формами, заключается в местной защите слизистых оболочек от инфекции.

Все микроорганизмы, вызывающие вторичный перитонит, условно можно разделить на внутриклеточные и внеклеточные (схема 1).

Схема 1

Классификация возбудителей перитонита



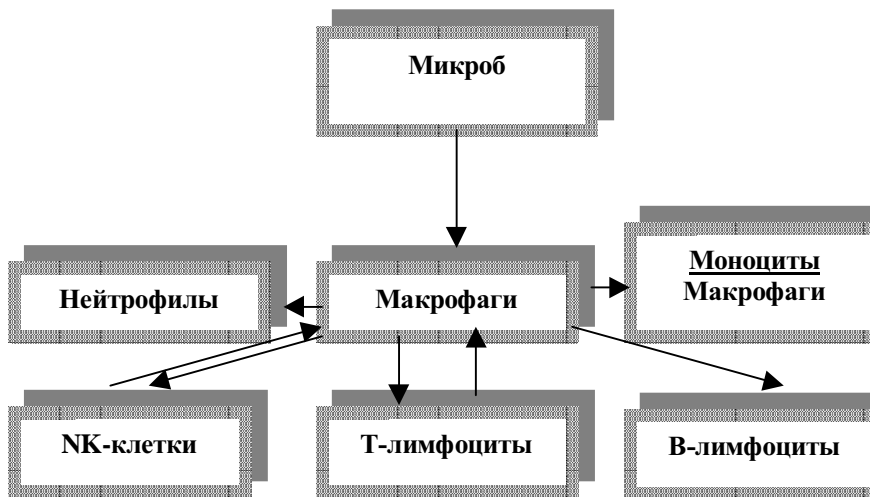
Главными эффекторными клетками в борьбе с *внеклеточными возбудителями* являются *нейтрофилы*. Их бактерицидная и поглотительная функция резко усиливается в присутствии комплемента и иммуноглобулинов G, а также при их активации фактором некроза опухоли (ФНО), ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и другими цитокинами, продуцируемыми макрофагами, НК-клетками и Т-лимфоцитами.

Главными эффекторными клетками в борьбе с *внутриклеточными возбудителями* являются макрофаги, НК-клетки и Т-лимфоциты. Их цитотоксические и бактерицидные функции резко повышаются под влиянием α - и γ -ИФ, ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-12 и других цитокинов, продуцируемых после активации АГ возбудителя этих же трех популяций клеток.

Первой иммунокомпетентной клеткой на пути перитонеальной инфекции является тканевой макрофаг, от состояния которого зависит защита от микрофлоры в первые 96 часов инфекционного процесса. Макрофаг (схема 2), захвативший микроб, активируется и синтезирует при этом ряд монокинов, которые повышают функциональную активность новых моноцитов/макрофагов, нейтрофилов и НК-клеток. Затем макрофаг, расщепив с помощью своей ферментной системы микроб, представляет его АГ-детерминанты Т- и В-лимфоцитам, инициируя тем самым развитие гуморального (синтез специфических АТ) и клеточного (образование популяций АГ-специфических АТ) ответа и продуцируя некоторые цитокины, необходимые для его развития.

Схема 2

*Принципы клеточной фагоцитарной защиты
в условиях перитонита*



Ключевым этапом в развитии иммунного ответа является представление антигенпрезентирующим клеткам и распознавание чужеродного антигена иммунокомпетентными клетками (Т-хелперами) только во

взаимодействии с собственными молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГ HLA) — так называемой «HLA-системой» — по принципу двойного распознавания. Многочисленные данные последних лет убедительно свидетельствуют о существовании тесных взаимосвязей между нейроэндокринной и иммунной системами. Гормоны и нейромедиаторы регулируют многие показатели иммунного ответа и функциональную активность лимфоцитов. В свою очередь, нейроэндокринные механизмы подвержены значительному влиянию со стороны факторов иммунной системы. Это особенно касается лимфоцитов и монокинов, а также антител и компонентов комплемента. То есть существуют интегративные регуляторные цепи, функционирующие как в нормальных условиях, так и при патологических состояниях. Молекулярную основу для систем взаимодействия обеспечивают общие рецепторные аппараты: опиатные рецепторы, рецепторы к гормонам, цитокинам и другим медиаторам, присутствующие на клетках иммунной и нейроэндокринных систем.

Накоплены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что органы или клетки иммунной системы продуцируют растворимые факторы, способные оказывать влияние на центральную нервную систему — так называемые «нейротрансмиттеры». Эти факторы передают сигналы и информацию в головной мозг, гипофиз и периферические эндокринные железы.

Таким образом, в организме человека существует распространенная система, осуществляющая функцию иммунологического контроля. При этом интегрированный иммунный ответ всегда направлен против спектра антигенов разной специфичности (экзогенного, эндогенного и аутологичного происхождения). Несостоятельность иммунной системы зачастую клинически проявляется разнообразными заболеваниями, в свою очередь усиливающими иммунные повреждения в организме. В связи с этим особое значение приобретают сведения о конкретных формах иммунных нарушений при определенной патологии, особенностях их клинического течения, методах диагностики и современных способах иммуномодуляции.

1.2. Механизмы иммунной системы слизистых

Иммунная система слизистых (ИСС) формирует защитный барьер, предохраняющий организм от воздействия патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Защитные механизмы на уровне ИСС протекают при развитии минимальных воспалительных реакций и, как правило, не сопровождаются повреждением тканей. Доказано, что ИСС очень тесно взаимодействует с эпителиальными, нервными, мышечными и стромальными клетками. Значительные нарушения в системе этих взаимодействий ведут, как правило, к развитию системного воспаления и стимулируют иммунные реакции с вовлечением продукции цитокинов.

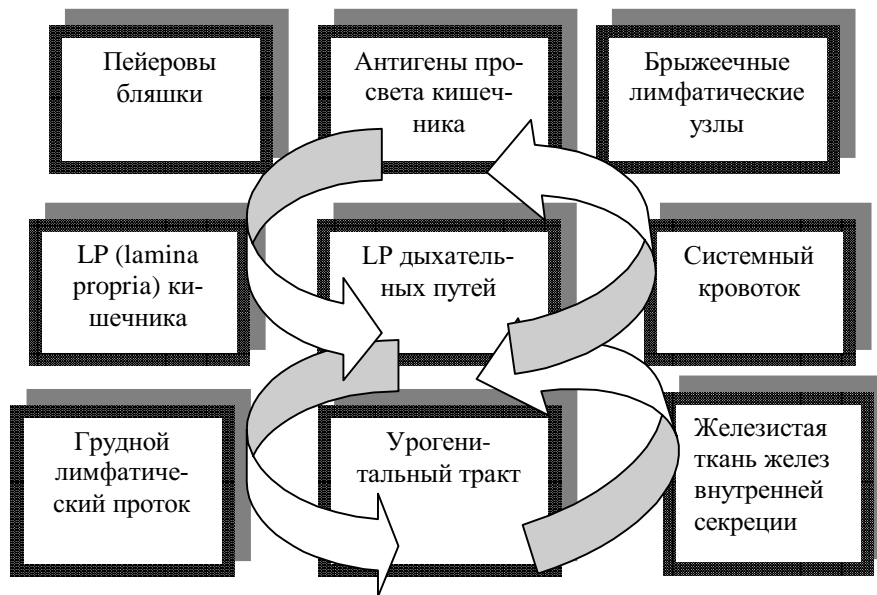
ИСС имеет общую поверхность более 400 м² (тогда как кожа — 1,8 м²). Около 80% ее плазматических клеток продуцируют IgA. Плотность распределения этих клеток зависит от области ИСС.

Иммунная система слизистых может быть условно разделена на две области: *индуктивную* (пейеровы бляшки (ПБ), региональные лимфатические узлы, аппендикс) и *эффекторную* (LP — lamina propria, слизистая). В индуктивной области происходят процессы иммунологического распознавания, переработки и презентации

антигена и формируется небольшая популяция антигенспецифических лимфоидных клеток. В эффекторной области осуществляются клеточно-опосредованные механизмы защиты слизистых.

Все типы иммунокомпетентных клеток, включая Т-хелперы (CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+), sIgA — В-клетки и аксессуарные клетки (макрофаги, дендритные клетки) присутствуют в индуктивном ответе ИСС, обеспечивая на начальных этапах запуск иммунных реакций. Другой областью иммунных форм клеточно-гуморального ответа являются мигрирующие в эффекторные зоны антигенспецифические Т- и В-лимфоциты.

Организация ИСС



Доказано, что цитокины и нейроэндокринные факторы выполняют важнейшие функции в регуляции дифференцировки В-клеток, а также в индукции и регуляции продукции IgA. Известно, что не все цитокины вызывают одинаковый эффект продукции IgA. ИЛ-1, ИЛ-3, ГМ-КСМ, γ -ИФ не принимают непосредственного участия в регуляции IgA-продукции в условиях *in vitro*.

Вместе с тем, продукция и транспорт IgA являются сложными процессами. Регуляция этих процессов зависит не только от цитокинов, продуцируемых Т-клетками, но и от различных нейроэндокринных факторов — выработки холецистокинина, эстрогенов, кортикостероидов, нейропептидов (субстанции P, VIP), а также от усиления патогенной контаминации проксимальных отделов кишечника вследствие развития синдрома кишечной недостаточности.

Полимерный IgA способен эффективно нейтрализовать бактериальные токсины, ферменты и агглютинировать бактерии. Секреторный IgA (sIgA) проявляет свою активность в биологических средах с высоким содержанием протеолитических ферментов, что имеет чрезвычайно важное значение в условиях перитонита.

ИСС значительно отличается от системных лимфоидных органов, в первую очередь, своей направленностью на индукцию и поддержание синтеза антител IgA в процессе иммунного ответа, обеспечивая сохранение биологического гомеостаза. Предшественники IgA-секретирующих клеток локализуются преимущественно в ПБ. В процессе иммунного ответа эти клетки способны мигрировать во все эффекторные участки ЖКТ, респираторного тракта, мочеполовой системы и в различные секреторные железы. Значительная роль в регуляции синтеза IgA принадлежит CD 4 + Т-клеткам, реализующим свои функции путем продукции цитокинов Th-1- и Th-2-типа. В условиях перитонита, приводящего к развитию энтеральной недостаточности, проксимальной контаминации микрофлоры дистальных отделов кишечника с увеличением ее патогенности, происходит неуправляемая активация процессов размножения индигенной микрофлоры в просвете кишки, обуславливая нарушение иммуногенеза в ЖКТ на всех его уровнях, дезинтеграцию Т-, В-клеток, секреторного IgA, выработки ИЛ. *Вследствие недостаточности ИСС формируется или усугубляется вторичный (общий) иммунодефицит организма.*

1.3. Особенности иммунного статуса в условиях перитонита

Иммунодефицит — изменение нормального иммунного статуса, обусловленное дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа. Все многообразие иммунной недостаточности сводится к следующим нарушениям:

- 1) недостаточности фагоцитоза;
- 2) недостаточности системы комплемента;
- 3) недостаточности гуморального иммунитета;
- 4) недостаточности клеточного иммунитета;
- 5) комбинированным системным нарушениям с поражением Т-клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

В условиях перитонита развивается выраженный *приобретенный (вторичный) иммунодефицит*, базирующийся на недостаточной функции вышеперечисленных нарушений иммунного ответа. В создании вторичного иммунодефицита в условиях перитонита, с одной стороны, участвуют продукты тканевого распада, эндотоксины, пирогенные вещества, микроорганизмы, с другой — различные лекарственные препараты (кровезаменители, синтетические медикаменты, антибиотики, средства симптоматической терапии). Образующиеся путем активации каллекриин-кининовой системы, перекисного окисления липидов (ПОЛ) биологически активные вещества активизируют механизмы неспецифического иммунитета (опсонизации, хемотаксиса, фагоцитоза). В этом процессе важная роль отводится фибронектинам (неспецифическим регуляторам

защитных механизмов организма). В силу этого при перитоните большое диагностическое и прогностическое значение имеет оценка сывороточных фибронектинов, хемотаксиса, фагоцитоза и активности ЕКК.

Диспротеинемия, а затем и гипоальбуминемия, обусловленная катаболическими процессами, секвестрацией белковых молекул в кишечнике и их последующим неполным гидролизом, выраженным синдромом энтеральной недостаточности, являются еще одной причиной вторичной иммунной недостаточности при перитоните. Все нарушения со стороны иммунитета при перитоните носят отчетливо фазный характер, свидетельствуя о тяжести процесса и степени компенсаторной активности иммунокомпетентных органов на этапах развития заболевания (рис. 1).

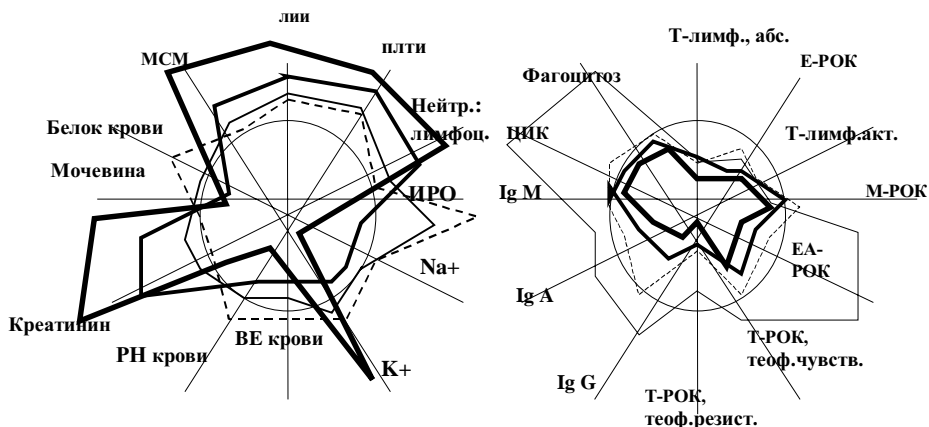


Рис. 1. Показатели гомеостаза у больных перитонитом в различных стадиях заболевания (А — динамика отдельных лабораторных показателей; Б — изменение показателей иммунитета); круг — значение нормальных показателей; — показатели в реактивной стадии; - - - в стадии интоксикации; — в фазе обратимой ПОН терминальной стадии; — в фазе необратимой ПОН терминальной стадии. Кроме общепринятых обозначений: ИРО — индекс резистентности (по О.С. Кочневу, 1987); ПЛТИИ — пульсо-лейкоцитарно-температурный индекс интоксикации (по С.Д. Химич, 1992); ВЕ — избыток (дефицит) оснований крови

При клинических исследованиях в реактивной стадии заболевания отмечается существенное снижение содержания лимфоцитов с уменьшением их функциональной активности, указывая на ослабление уже в этой стадии заболевания неспецифического и специфического клеточно-опосредованного иммунитета. Наблюдается повышение активности гуморального звена иммунитета, характеризующееся достоверным увеличением

В-лимфоцитов (М-РОК и ЕА-РОК), а также концентраций иммунных комплексов и иммуноглобулинов (особенно — фракций А и G). В этой стадии отмечается рост функциональной активности нейтрофилов в спонтанном ТНСТ-тесте (в 5,8 раз; $p < 0,001$) и способности их к фагоцитозу (в 2,4 раза; $p < 0,01$). В 2,2 раза ($p < 0,01$) возрастает в сыворотке крови концентрация комплемента, свидетельствуя об активации процесса связывания антител с антигеном, инициации фагоцитоза и лизиса микробных клеток.

В токсической стадии заболевания, вследствие прогрессирования перитонита, иммунитет и неспецифическая резистентность организма страдают в большей степени. Отмечается более существенное угнетение клеточно-опосредованного иммунитета со значительным снижением в крови лимфоцитов (до $0,73 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,001$), содержания их Т-фракции (Е-РОК — до $0,74 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,01$), активных Т-форм — до $0,22 \pm 0,003 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,001$), резистентных и чувствительных к теofilлину клеток (до $32,1 \pm 1,19 \times 10^9/\text{л}$ и $19,1 \pm 0,77 \times 10^9/\text{л}$ соответственно; $p < 0,01$), косвенно свидетельствуя об угнетении их хелперной и супрессорной функции. Период наивысшего напряжения гуморального иммунитета в этой стадии сменяется его прогрессирующей депрессией. Это выражается в существенном снижении содержания В-лимфоцитов (М-РОК и ЕА-РОК; $p < 0,01$) и всех фракций иммуноглобулинов. Отмечается более глубокое угнетение функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов, связанное с существенным снижением их метаболизма (по тесту с нитросиним тетразолием — более чем в 2,5 раза; $p < 0,001$). Имеет место уменьшение активности фагоцитоза, снижение титра комплемента крови ($p < 0,01$). Все сдвиги в токсической стадии перитонита носят обратимый характер и напрямую связаны со степенью эндогенной интоксикации.

В терминальной стадии перитонита отмечается почти полная несостоятельность факторов защиты организма с глубоким подавлением клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Анализ изменений позволяет выделить в этом периоде болезни две фазы — *обратимой и необратимой полиорганной недостаточности*. Основным фактором различия между ними является обратимость изменений со стороны иммунитета (как, впрочем, и других показателей гомеостаза). В соответствии с этим принципом, свидетельством неблагоприятного развития болезни являются следующие изменения: уменьшение концентрации лимфоцитов крови ниже уровня $0,5 \times 10^9/\text{л}$; Т-лимфоцитов (Е-РОК) — менее $0,62 \times 10^9/\text{л}$; активных Т-форм — менее $0,19 \times 10^9/\text{л}$; В-лимфоцитов — ниже $0,13 \times 10^9/\text{л}$; В-лимфоцитов (ЕА-РОК) — менее $0,25 \times 10^9/\text{л}$; теofilлин-чувствительных Т-РОК — ниже 15%; теofilлин-резистентных Т-РОК — менее 19%; IgG — ниже 6 г/л; IgA — менее 3 г/л; IgM — ниже 1,1 г/л; концентрации иммунных комплексов — менее 2 мг/мл; показателя ТНСТ-теста — ниже 50 усл. ед.; интенсивности фагоцитоза — менее 50%. Наряду с количественными показателями, о полной (необратимой) декомпенсации со стороны иммунной системы свидетельствует отсутствие положительных сдвигов при полном устранении источника перитонита и проведении комплекса лечебных мероприятий. Таким образом, оценка состояния иммунитета помогает клиницистам в определении стадии перитонита, выработке лечебной программы и прогнозировании исхода заболевания.

Фазность изменений со стороны иммунитета коррелирует с динамикой изменений показателей гомеостаза (см. рис. 1). Напряжение факторов защиты на ранних этапах заболевания (в реактивной стадии) сменяется их

прогрессирующей недостаточностью (в токсической и, особенно, терминальной стадиях). Каждый этап развития болезни характеризуется определенными границами качественных и количественных показателей метаболизма. Диагностическая ценность этих величин неоднозначна. Лишь в совокупности с другими показателями, данными клинической диагностики и специальных методов обследования, они позволяют достаточно четко определить границы той или иной стадии (фазы) болезни.

Роль микроэлементов

Присущий перитониту синдром энтеральной недостаточности обуславливает дефицит микроэлементов (железа, цинка, меди). Последние необходимы для становления защитных функций иммунной системы. Так, доказана зависимость дефицита железа с высокой заболеваемостью и летальностью от гнойно-воспалительных процессов. При недостаточности цинка в организме изменяется активность сывороточного тимического фактора, уменьшается содержание CD4+CD клеток, нарушается пролиферативная активность лимфоцитов и иммунный ответ при кожных пробах, снижается активность ЕКК и функции гранулоцитов.

2. ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ПЕРИТОНИТЕ

Изучение функционирования иммунной системы в условиях перитонеального иммунодефицита необходимо проводить с целью идентификации нарушенного звена иммунитета, мониторинга прогнозирования исхода, выбора адекватного метода лечения и оценки его эффективности.

В 1984 г. Р.В. Петров и соавт. применили двухэтапный подход к оценке иммунного статуса. На 1-м этапе с помощью простых, ориентировочных методов выявляют «грубые» дефекты со стороны фагоцитоза, клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Более тщательный и углубленный анализ изменений со стороны иммунной системы проводят с использованием тестов 2-го уровня, которые обозначают как аналитические. К ним можно отнести практически все методы, с помощью которых оценивается функциональная активность фагоцитов, вспомогательных клеток, естественных киллеров, Т- и В- клеток.

В 1987 г. R. Horg предложил трехэтапный принцип оценки иммунного статуса:

Тесты 1-го уровня: 1) определение количества лимфоцитов и их морфологии; 2) кожные тесты; 3) определение уровней иммуноглобулинов и их субклассов; 4) рентгенография и рентгеноскопия лимфоидных органов.

Тесты 2-го уровня: 1) гистохимический анализ лимфоидных органов; 2) анализ поверхностных маркеров мононуклеарных клеток в проточном лазерном цитомере с использованием моноклональных антител (МКАТ); 3) анализ пролиферативного ответа лимфоцитов на действие основных митогенов; 4) анализ цитотоксичности.

Тесты 3-го уровня: 1) определение активности энзимов (аденозиндезаминазы, пуридинуклеотидфосфолипазы), ассоциированных с иммунной недостаточностью; 2) определение синтеза и секреции цитокинов; 3) определение гормонов тимуса в сыворотке крови; 4) анализ фагоцитов; 5) определение компонентов системы комплемента; 6) анализ смешанных клеточных культур с целью определения иммуноглобулинпродуцирующей фракции В-лимфоцитов; 7) генетический и цитологический анализы хромосомного материала.

В 1995 г. U. Wahn при подозрении на первичный иммунодефицит предложил проводить оценку иммунного статуса, разделив все методы исследования на скрининговые и развернутые. При оценке В-системы к скрининговым тестам относят: определение клеток СД 19; СД 20; уровней IgGб, IgA, IgM, а также субпопуляций IgG в сыворотке крови; к развернутым — анализ РБТЛ на митоген лаконоса и *St. aureus*, изучение синтеза Ig *in vitro*, определение поверхностных маркеров В-лимфоцитов. При оценке Т-системы к скрининговым тестам относятся кожные тесты на бактериальные антигены, определение поверхностных маркеров Т-лимфоцитов СД3+, СД4+, СД8+ и анализ РБТЛ на фитогемагглютинин (ФГА), к развернутым — изучение продукции цитокинов, активационных маркеров и анализ Т-клеточного рецептора.

При оценке фагоцитоза к скрининговым тестам относят: определение абсолютного числа нейтрофилов, изучение морфологии нейтрофилов и образование активных форм кислорода, к развернутым — определение киллинга микробов, продукции цитокинов и т.д.

По рекомендации экспертов ВОЗ (1993 г.) в оценке иммунного статуса следует использовать методы иммунохимического, иммуногенетического и клеточного исследований.

2.1. Оценка фагоцитоза

К тестам I-го уровня относят определение абсолютного числа нейтрофилов и моноцитов, интенсивность поглощения микробов нейтрофилами и моноцитами, определение метаболической активности нейтрофилов в тестах с нитросиним тетразолием (НСТ).

Все остальные методы оценки фагоцитоза относятся к тестам II-го уровня — определение интенсивности хемотаксиса фагоцитов (экспрессия молекул адгезии (CD 11a; CD 11; CD 11c; CD 18) на поверхностной мембране нейтрофилов).

2.2. Оценка В-системы

К тестам I-го уровня (гуморальное звено иммунитета) относят определение в сыворотке крови иммуноглобулинов классов G, A, M, E; процента и абсолютного количества В-лимфоцитов (CD 19, CD 20) в периферической крови. Определение количества иммуноглобулинов позволяет косвенно судить о Т-системе иммунитета.

К тестам II-го уровня относят: определение субклассов иммуноглобулинов, особенно IgG; секреторного IgA (sIgA); соотношение К и λ цепей; специфических антител к белковым и полисахаридным антигенам; способности лимфоцитов давать пролиферативный ответ на В-митогены (стафилококк, липополисахарид) и Т-В-митогены (митоген лаконоса).

2.3. Оценка Т-системы

К тестам I-го уровня (клеточного звена) Т-системы иммунитета относят: определение общего числа лимфоцитов; процента и абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов (CD 3) и двух основных Т-субпопуляций: хелперов/индукторов (CD 4) и киллеров/супрессоров (CD 8); пролиферация активного ответа

на основные Т-митогены — ФГА и конканавалин А (Кон А); определение функциональной активности лимфоцитов (РБТЛ).

К тестам II-го уровня относят кожные тесты с рядом микробных антигенов (проба Манту); определение продукции цитокинов — ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФ, ФНО и др.; активационных молекул на поверхностной мембране Т-лимфоцитов (СД 25, HLA-DR), молекул адгезии (CD 11a, CD 18); пролиферативного ответа на специфические антигены (чаще на дифтерийный или столбнячный анатоксины); индекс активации лимфоцитов препаратами тимуса.

Существенные сложности в оценке иммунного статуса могут быть связаны с главным иммунорегуляторным звеном иммунитета — цитокиновой сети, оценка которой должна осуществляться по следующим направлениям:

- 1) оценка экспрессии гена по уровню м-РНК для цитокина в полимеразной цепной реакции (ПЦР);
- 2) идентификация внутриклеточных цитокинов с использованием МКАТ с помощью проточной цитометрии;
- 3) определение в биологических жидкостях цитокинов с помощью иммуоферментной реакции;
- 4) определение аффинности цитокинов и уровня их гликозилирования;
- 5) оценка активности цитокинов в биологическом тесте.

Из имеющихся двух основных видов иммунологического синдрома (антигенспецифического и антигеннеспецифического) и девяти вариантов его течения при перитоните имеют существенное значение *иммунодефицитный, инфекционный, лимфопролиферативный, послеоперационный иммунный синдромы*.

Для оценки *иммунодефицитного синдрома* необходимо всестороннее изучение системы иммунитета, включая определение функциональной активности Т-лимфоцитов с митогенами в РБТЛ (снижение показателя) и РТМЛ (повышение), количества Т-хелперов (снижение), Т-супрессоров (повышение), уровня иммуноглобулинов крови (дисгаммаглобулинемия) и иммунных комплексов (снижение показателя).

Иммунный синдром после операции — определение количества лейкоцитов (увеличение), нейтрофилов (появление молодых форм), изучение активности фагоцитоза (снижение фагоцитарного показателя и адгезивной способности фагоцитов в тесте розеткообразования — ЕН-РОК и функциональной способности фагоцитов в НСТ-ЛКТ-тестах (увеличение).

Инфекционный синдром — обнаружение специфических антител и антигенов в крови; выявление сенсибилизированных лимфоцитов в тестах розеткообразования, РБТЛ и РТМЛ со специфическими антигенами; определение количества Т-лимфоцитов (снижение).

Лимфопролиферативный синдром — определение количества Т- и В-лимфоцитов (нарушение их соотношения), иммуноглобулинов А, М, G (дисгаммаглобулинемия); изучение цитохимической характеристики лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов и их предшественников.

Основными показаниями к изучению иммунного синдрома являются вялотекущий характер заболевания, длительное проведение антибактериальной и кортикостероидной терапии. Однако у больных, получающих иммунодепрессивную, цитостатическую терапию, препараты крови, иммунологическое исследование

целесообразно проводить спустя 5–10 дней с момента окончания лечения, поскольку выявляемые у них изменения иммунного синдрома носят временный характер и спонтанно исчезают при устранении инфицирующих факторов.

Исследование послеоперационного иммунного синдрома может быть проведено в течение первых 3 сут после операции (экстремального воздействия), так как при любой стрессовой ситуации происходит перераспределение клеток периферической крови и депонирование их во внутренних органах и лимфоузлах. Спустя 5–10 дней после хирургического вмешательства при наличии клинических показателей целесообразно провести изучение иммунодефицитного синдрома.

2.4. Критерии оценки эффективности лечения

Оценивать иммунный статус нужно в динамике через 10–15 дней и спустя 5–10 сут с момента острого воспаления (воздействия стрессового фактора). Лабораторные методы его оценки позволяют выявить отклонения, определить прогноз течения заболевания и дать необходимые рекомендации по проведению иммуномодулирующей терапии с учетом ряда критериев клинического и иммунологического характера.

Клинические критерии определяются неэффективностью проводимых лечебных мероприятий общепринятыми методами; длительным предшествующим применением иммунодепрессантов и кортикостероидов; низкой активностью воспалительного процесса; хроническим, затяжным течением заболевания на фоне длительно проводимой антибактериальной терапии; тяжелым течением вирусной инфекции и др.

Иммунологические критерии — снижение содержания Т-лимфоцитов, Т-хелперов, индекса соотношения Т-хелперов и Т-супрессоров (Тх/Тс), уровня иммуноглобулинов и компонентов комплемента в крови; снижение фагоцитарного показателя и незавершенность фагоцитоза; снижение показателя бластной трансформации лимфоцитов и повышение этого показателя в РТМЛ на антигены и митогены; повышение количества Т-супрессоров; лимфо- и лейкоцитопения.

При комплексном анализе оценки иммунной системы необходимо учитывать сложности теоретического и практического характера:

1. Многокомпонентность иммунной системы, каждое из звеньев которой может быть нарушено в процессе лечения перитонита.

2. Неадекватный выбор материала для исследования. В ряде случаев исследование материала, полученного из больного органа (при перитоните — перитонеального экссудата), может в большей степени отражать истинное состояние иммунной системы, чем исследование периферической крови, и, соответственно, дает больше информации для иммунодиагностики заболевания и выбора метода его лечения.

3. При оценке иммунной системы необходимо дифференцировать изменения, которые служат причиной заболевания, и изменения, являющиеся следствием патологического процесса, прямо не связанного с иммунной системой (вторичные индуцированные иммунодефициты).

4. Недостаточная материально-техническая база большинства лабораторий клинической иммунологии: отсутствие проточного цитометра для выполнения большинства тестов II-го уровня; отсутствие молекулярно-генетических методов оценки иммунной системы.

3. ИММУНОКОРРЕКЦИЯ

Оценка иммунного статуса позволяет проводить целенаправленную иммунокорректирующую терапию, избирательно стимулирующую или угнетающую отдельные звенья системы иммунитета.

Главным критерием назначения иммуномодуляторов должна служить клиническая картина заболевания. Так, в I-й стадии перитонита у больных без признаков выраженных изменений в иммунной системе следует назначать иммунокорректоры превентивно, с целью повышения антиинфекционной резистентности организма.

Учитывая приведенные ранее механизмы антиинфекционной защиты в условиях перитонита, становится целесообразным использование иммуномодуляторов, избирательно действующих на клетки моноцитарно-макрофагальной системы (ММС). При ее активации приводится в движение вся совокупность специфических и неспецифических факторов защиты иммунной системы. К высокоэффективным средствам последнего поколения с преимущественным воздействием на клетки ММС относятся полиоксидоний, ликопид, третья фракция миелогида (МП-3), производные поливинилпиридина.

В свою очередь, способность фагоцитарных клеток выполнять свои функции сильно зависит от функциональной активности Т-лимфоцитов (конкретно — от их способности продуцировать цитокины, вооружающие эти клетки).

Поэтому иммуномодуляторы с преимущественным воздействием на Т-лимфоциты и индуцирующие у них синтез цитокинов будут значительно активировать поглотительную и бактерицидную функцию как клеток ММС, так и нейтрофильных лейкоцитов, т.е. усиливать антиинфекционную защиту организма (схема 3).

То есть, используя иммуномодуляторы, преимущественно воздействующие на ММС, можно достигнуть активации иммунной системы от центра к периферии, так называемой *центростремительной активации*. Применяя иммуномодуляторы с преимущественным воздействием на Т-систему иммунитета, осуществляется центробежная активация иммунитета в направлении, обратном естественному движению активационного ответа. Это в конечном итоге и приводит в действие иммунную систему на повышение антиинфекционной защиты организма. Оба перечисленных вида активации иммунитета должны применяться в комплексном лечении больных с перитонитом I–II стадий.

Данные иммунофармакологических исследований позволяют оценить влияние ряда препаратов на иммунный статус пациента. Во II–III стадиях перитонита (схема 4), зная наиболее поражаемые популяции (субпопуляции), можно использовать то или иное фармакологическое средство для коррекции нарушений иммунного статуса.

3.1. Классификация иммуномодуляторов по преимущественной избирательности иммунотропного эффекта

По преимущественной избирательности иммунотропного эффекта иммуномодуляторы делятся на следующие группы:

1. *Стимуляторы неспецифической резистентности организма* — полисахариды бактериальные — пирогенал, продигиозан; ГМДП–А (препарат из производного глюкозаминил-мурамилдипептида); гликопин; дрожжевые — зимозан, сальмозан; глюканы; пропермил; декстраны; вакцины (БЦЖ, БрВ-бруцеллезная, БтВ-

брюшнотифозная, «Гриппол»), производные пурина и пиримидина (метилурацил, пентоксил); адаптогены; цитомак (цитохром С); витамины Е, С, А; производные бензодиазепа (феназепам и др.), активаторы ММС — полиоксидоний, ликолипид, миелопепид.

Схема 3

*Иммуномодулирующая активация
антиинфекционной защиты в условиях перитонита*



2. Активаторы Т-лимфоцитов (клеточного звена иммунитета) — препараты тимуса 1-го поколения — тактивин, тималин, тимаген; 2-го поколения — тимозин; 3-го поколения — тимунокс (тимопентин); 4-го поколения — имунофан; соединения имидазола левамизол (декарис); диуцифон; нейропептиды (эпиталамин, гемалин);

ретиноиды (витамин А); препараты цинка; ноотропил (пирацетам); натрия лобензерит; тиобутират; димексид (диметилсульфоксид); гепарин (в малых дозах); цитокины (рондолейкин, В-лейкин).

Схема 4

**Коррекция иммунной системы в условиях
II–III стадий перитонита**



3. Препараты, стимулирующие преимущественно В-лимфоциты (гуморальное звено иммунитета) — миелопептиды В-активин, миелопид, (фр. МП-3), ликопид; спленин; олигопептиды и производные лей-кефалинов тафцин, ригин, даларгин, стиламин (соматостатин); низкомолекулярные иммуномодуляторы (бестатин, амастатин, леакадин, форфеницил); кемантан.

4. *Активаторы естественной и антителозависимой клеточной цитотоксичности* — ИФ и их индукторы (низкомолекулярные — циклоферон и амиксин; полимерные — полудан; производные госсипола — кагоцел, саврац, рагосин; производные РНК — ларифан, ридостин); повышающие внутриклеточное содержание цГМФ — холиномиметики.

5. *Препараты, блокирующие супрессорное звено иммунитета* — ингибиторы синтеза простагландинов (аспирин, индометацин, ибупрофен); ингибиторы синтеза и секреции цитокинов — глюкокортикоиды, противовоспалительные препараты нового поколения (тенидап, ромазарит и др.), антибиотики (циклоспорин А, рифампицин), антипаразитарные производные мочевины (сурамин), сосудорасширяющие средства (пентоксифиллин).

6. *Вещества, повышающие кооперацию иммуноцитов путем фенотипической коррекции генного контроля иммунитета* (через Ig-антигены): полиэлектролиты с контролируемой структурой (ПАК-полиакриловая кислота; ПВП-поливинилпиридин; ПВП-К-поливинилэтилпиридиний бромид); бетаиновые производные гетероцепных алифатических полимерных окисей: полиоксидоний; соединения гаптенных или слабоиммуногенных антигенов с молекулами неприродных полиэлектролитов (так называемые иммуногены нового типа) — вакцина «Гриппол».

Избирательность в действии иммуностимуляторов, с одной стороны, и определенная селективность в действии иммунодепрессантов — с другой, служит теоретической основой для разработки комбинаций препаратов различных групп и режимов их использования с целью одновременного или последовательного выключения одних механизмов и активации других.

При признаках иммунодефицита и стойкой лимфопении может быть назначен леакадин по 0,3–0,5 г внутримышечно или внутривенно 2–3 дня подряд. Препарат необходимо применять только после устранения гнойного процесса в брюшной полости. Преимущественное угнетение клеточного иммунитета заставляет применять препараты, приготовленные на основе пептидов, выделенных из тимуса — тималина, тактивина, имунофана и др. Если у больного используется эндолимфатическая или лимфотропная антимикробная терапия, то Т-модуляторы можно вводить вместе с антибиотиками, что «экранирует» их иммуносупрессорный эффект. В качестве примера следует привести 3 наиболее широко используемые схемы иммунокоррекции.

Схема 1: имунофан 0,005% раствор — 1 мл внутримышечно, ежедневно, в течение 5–7 дней + меронем 1,0 г внутривенно 3–4 раза в сутки, в течение 5–7 дней. Схема может быть использована в реактивной и токсической стадиях перитонита.

Схема 2: циклоферон 12,5% раствор — 2,0 мл внутримышечно, через день № 3 + имунофан 0,005% раствор — 1,0 мл внутримышечно, ежедневно, в течение 5–7 дней + полиоксидоний 0,0005% раствор — 5,0 мл один раз в три дня № 2. Схема может быть использована в реактивной и токсической стадиях перитонита.

Схема 3: имунофан 0,005% раствор — 1,0 мл внутримышечно в течение 5–7 дней + спленин 1,0 внутримышечно, ежедневно, в течение 5–7 дней + диуцифон 5% раствор — 2,0 мл внутримышечно, два раза в сутки, в течение 5–7 дней. Схема 3 может быть использована для лечения перитонита в токсической и терминальной стадиях.

Сочетание лимфопении с угнетением клеточного иммунитета может стать показанием для назначения малых доз антилимфоцитарного иммуноглобулина — антилимфона — внутривенно 0,8 мг/кг на 400 мл раствора Рингера. После введения, на третьи сутки, значительно увеличивается содержание Т- и В-лимфоцитов, сохраняющихся на этом уровне продолжительное время.

В случаях снижения Т-лимфоцитов с увеличением Т-хелперов используется следующая комбинированная схема иммуномодуляции. После восстановления моторики кишечника — левамизол (декарис) по 150 мг 3 дня подряд и натрия нуклеинат по 0,9–1,2 г внутримышечно в течение 10–12 дней с последующим повторением левамизолового цикла. Левамизол при этом значительно повышает активность Т-супрессоров, продукцию эндогенного интерферона, стимулирует фагоцитоз.

Изолированное и существенное снижение фагоцитарной активности может стать показанием для назначения продигозана коротким курсом по 25–50 мкг с интервалом в 2–3 дня.

При развитии иммунодефицита на поздних стадиях перитонита используется гипериммунная плазма или иммуноглобулины в зависимости от основного ассоцианта микрофлоры перитонеального экссудата (или, основываясь на характере РТМЛ, на микробные антигены). Использование любой гипериммунной плазмы (по принципу доступности) малооправдано, так как по своему корригирующему эффекту она практически ничем не отличается от переливания обычной нативной плазмы. В этом случае эффект иммуномодуляции будет зависеть от компенсации недостаточной комплементарной активности, ведущей к снижению опсонизации и низкой функциональной активности фагоцитоза. Используется курс из 3–5 трансфузий по 250–500 мл гипериммунной плазмы или 3–7 мл иммуноглобулина ежедневно.

В случаях общего угнетения клеточного и гуморального иммунитета, наблюдающегося при поздней стадии перитонита, применяется внутримышечно диуцифон по 200 мг (4 мл 5% раствора) в течение 4–5 дней. Последний увеличивает и пролиферацию Т-клеток, и антителопродукцию на тимуснезависимые антигены.

3.2. Принципы иммунотерапии перитонита

Суммируя изложенное выше, можно сформулировать некоторые общие принципы иммунотерапии больных с признаками вторичного, индуцированного перитонитом, иммунодефицита:

1. Главным обоснованием для назначения иммуномодуляторов является клиническая картина заболевания, плохо поддающегося традиционному лечению.

2. Иммуномодуляторы, за редким исключением, не применяются в виде монотерапии, а являются, как правило, составной частью комплексного лечения.

3. Назначение иммуномодуляторов при перитоните следует производить сразу же после выявления дефектов иммуноскрининга I-го уровня (1–2 сут), не дожидаясь выраженного проявления иммунодефицита (так называемая «превентивная иммунокоррекция»).

4. Необходимо сочетанное использование антибиотиков и иммуномодуляторов для достижения большего практического эффекта. Антибиотик убивает или подавляет функциональную активность возбудителя, а иммуномодулятор повышает функциональную активность фагоцитов, усиливая бактерицидный эффект, за счет чего достигается большая эффективность комплексного лечения. В этом плане хорошие результаты лечения получены при совместном внутрибрюшинном введении антибиотиков с гипохлоритом натрия, полученным электрохимическим способом.

Изменения разнопланового характера в иммунной системе больных с перитонитом нуждаются в комплексной оценке иммунологического статуса, целенаправленной и полноценной коррекции. Проводимая терапия с учетом оценки иммунологического статуса позволяет существенно снизить летальность и улучшить прогноз при этом грозном заболевании.