

SURGICAL INFECTIONS

EFEKTÍVNOSŤ POLYOXIDONIA V EXTRAKORPORÁLNEJ TERAPII SEPSY U CHORÝCH S VRODENÝMI DEFEKTAMI SRDCA

Oblastná nemocnica s poliklinikou, Rostov na Donu
NII klinickej imunológie štátnej medicínskej univerzity Rostova

Frekvencia pooperačných komplikácií pri chirurgickom liečení vrodených defektov srdca (VDS, congenital heard defects - CHD) a obtiažnosť ich priebehu na pozadí imunologickej nedostatočnosti podmieňujú nutnosť použitia cieľovej imunokorekčnej terapie (2,5,7,11). Neprítomnosť presvedčivých klinických úspechov pri vykonávaní liekovej korekcie pooperačných hnisavých komplikácií (zvlášť sepsy) núti nás hľadať iné cesty pôsobenia na imunitnú homeostázu; z ktorých jedna je metóda tzv. extrakorporálnej (mimotelovej) terapie (1,3,6). Základom tohoto prístupu je predpoklad, že chorým s ťažkými formami hnisavej chirurgickej infekcie sa v krvi hromadia faktory, ktoré potláčajú imunitný systém (4,9,12). Pritom sa zdá byť aktuálne využitie extrakorporálnej terapie s imunomodulátorom (6,13). Pre tento účel bol vybraný preparát Polyoxidonium - preparát, ktorý bol získaný syntézou (N-oxidácie derivátu polyetylénpiperezínu), (7,10) a ktorý má nielen imunomodulačné, ale aj detoxikačné vlastnosti (10), čo nepochybne musí zosilniť efektívnosť extrakorporálnej terapie.

Cieľom daného výskumu bolo štúdium efektívnosti extrakorporálnej terapie v spojení s polyoxidoniom (PO).

Materiály a metódy

Bolo vyšetrených 41 chorých s VDS modrého typu vo veku od 10 do 14 rokov s dokumentovanou sepsou v pooperačnom období. U všetkých vyšetrených, základnými nozologickými formami (zdrojom sepsy), bola ťažká akútna sekundárna chirurgická sepsa s orgánovou nedostatočnosťou (insuficienciou) - 12 (29,3 %) chorých, hnisavá mediastinitída - 10 (24,4 %), povrchové hnisanie operačných rán - 8 (09,5 %), pneumónia - 5 (12,2 %), infekcie močových vylučovacích ciest - 6 (14,6%).

Mikroflóra v krvi bola stanovená u 37 % pacientov. V 56,3% prípadov to bola grampozitívna flóra, v 31,6 % prípadov - gramnegatívna flóra, v 12,1 % - asociácia grampozitívnej a gramnegatívnej flóry.

Všetci pacienti s VDS modrého typu boli rozdelení do skupín v závislosti na vykonávanej terapii. V prvej skupine (21 pacientov) bol vykonávaný maximálny režim etiotropnej antikabteriálnej terapie s antibiotikami širokého spektra pôsobenia a s prihliadnutím na citlivosť patogénnych mikroorganizmov na nich, ktorá sa určovala bakteriologicky. Prevažne (66,5 % prípadov) v terapii sepsy a zvlášť jej ťažkých foriem sa používali karbapenemi (imipenem, meropenem) ako preparáty so širokospektrálnou aktivitou,

ku ktorým je najmenšia úroveň rezistencie vnútronemocničných kmeňov gramnegatívnych baktérií. Pritom pri etiotropnej terapii sepsy sme používali ako monoterapiu karbapenemi, tak aj kombinovanú terapiu s 2 - 3 antimikrobiálnymi preparátmi (cefalosporin + aminoglykozidy + preparáty s antianaeróbnou aktivitou). V druhej skupine (20 pacientov) vedľa etiotropnej antibakteriálnej terapie sepsy sa vykonávala extrakorporálna imunofarmakoterapia (EIT) s použitím polyoxidonia.

Metódu EIT sme uskutočňovali pomocou aferézy autologenného leukokonzentrátu s použitím multikomponentného systému MCs3p firmy „HAEMONETICS“ podľa protokolu PBSC (Peripheral Blood Stem Cell) s jeho následnou inkubáciou s imunomodulátorom polyoxidoniom v maximálnej jednorázovej dávke a s reinfúziou (6).

V priebehu realizácie metódy aferézy autologenného leukokonzentrátu za jednu procedúru sa v priemere vylučovalo $(7,8 \pm 1,3) \times 10^9$ buniek s následnou inkubáciou autologenných neutrofilov s baktericídnym antibiotikom v maximálnej jednorázovej dávke s pridaním 2 - 3 ml jednopercentného ATF, ktorá extrakorporálne „zaťažuje“ fagozomy neutrofilov. Bunková hmota bola inkubovaná s antibiotikom pri 25 °C v priebehu 25 min. a následne okamžite sme ju reinfuzovali pacientovi. S prihliadnutím na klinický obraz endotoxikózy a syndrómu systémovej zápalovej reakcie, kúra predstavovala tri procedúry s intervalom 48 hodín. Metodika bola plnená v podmienkach vykonania štandardnej 2 - 3 komponentnej antibakteriálnej terapie, príslušnej bázeovej viackomponentnej terapie protokolu vedenia pacientov s infekčnou zápalovou patológiou (6).

Indikáciou výberu danej metódy bolo anabolické štádium infekčného zápalového procesu (sepsy) vo fáze raného vyčerpania, zvlášť s výraznou lymfopéniou a nízkou koncentráciou endogénnych cytokínov v krvi pri bezpodmienečnej radikálnej chirurgickej sanácii ohniska infektu, ako aj neprítomnosť klinického efektu intenzívnej terapie.

Identifikáciu membránových markerov imunokompetentných buniek periférnej krvi sme vykonávali metódou prietokovej cytofluorometrie pomocou prístroja firmy „CUOLTER XL“ s použitím monoklonálnych protilátok vyrobených Imunologickým ústavom Ministerstva zdravotníctva Ruskej federácie k antigénom CD3+, CD4+, CD8+, CD11b+, CD16+, CD22+, CD25+, HLA-DR+. Stav humorálnej imunity sme hodnotili u pacientov podľa obsahu sérový IgG, IgM, IgA, ktoré sme určovali metódou radiálnej imunodifúzie podľa Manciniho (G. Mancini a kol. 1965). Koncentrácia celkového IgE (v ME/ml) v krvnom sére sa stanovovala pomocou radioimunosorbčného testu PRIST, vypracovaného firmou „Phadebas – test“ (Švédsko, Widel, Bennich a Johansson, 1967 r.). Funkčná aktivita granulocytov sa hodnotila pomocou spontánneho a indukovaného NST - testu podľa reakcie nitromodrého tetrazolu (NST). Cirkulujúce imunitné komplexy (CIK) sa stanovovali podľa metódy V Haskova a kol. (1977 r.).

Pri registrácii úrovne endogénnej intoxikácie sme používali spôsob, vypracovaný M. Ya. Malachovou a kol. (1987 r.) : stanovenie látok nízkej a strednej molekulárnej hmotnosti (LNSMH) a oligopeptidov v krvnej plazme a erytrocytov. Koncentrácia oligopeptidov sa merala podľa metódy Lowry (O. Lowry a kol., 1951).

Na štatistické spracovanie získaných údajov sme používali neparametrické kritériá rozdielu posunu (polohy): hodnota štatistiky W a hodnota štatistiky V (Van der Vandera).

Výsledky a diskusia

Vykonanie EIT u pacientov s VDS a sepsou na pozadí etiotropnej antibakteriálnej terapie s použitím Polyoxidonia signifikantne zosilňovalo jej efektívnosť, čo sa preukázalo v jasnom oslabení klinických prejavov endotoxikózy (zníženie teploty tela, normalizácia ukazovateľov hemodynamiky a funkcie vonkajšieho dychu), ktoré sa spojovali s rýchlou (v priebehu 36 - 72 hodín po ukončení EIT) regresiou laboratórných príznakov syndrómu

endogénnej intoxikácie. Celkové trvanie zimničného obdobia v tejto etape liečenia pacientov pri EIT predstavovalo $9,3 \pm 0,5$ dní a bolo podstatne menšie ($p < 0,05$) v porovnaní s pacientmi s VDS a sepsou, ktorí dostávali antibakteriálnu terapiu bez EIT ($14,5 \pm 0,7$ dní). Na pozadí EIT bola pozorovaná výraznejšia a rýchlejšia regresia zápalových javov v primárnych ranových septických ohniskách s výrazne menšou frekvenciou vzniku piemických metastáz. Bolo zaregistrované signifikantne skrátenie doby príchodu regeneračno-reparačnej fázy zápalového ranového procesu do $7,4 \pm 0,22$ dní, zatiaľ čo u pacientov, ktorí dostávali iba antibakteriálnu terapiu (bez EIT), toto obdobie predstavovalo v priemere $12,6 \pm 0,4$ dní ($p < 0,05$). Pritom **úroveň faktickej letality** v skupine pacientov s VDS a sepsou, ktorí dostávali EIT bola podstatne nižšia (14,3 %), v porovnaní s prvou skupinou (33,3 %).

Pri porovnaní ukazovateľov imunitného stavu pacientov s VDS a sepsou, ktorí dostávali iba antibakteriálnu terapiu a pacientov, ktorí okrem toho dostávali EIT, u týchto bolo pozorované rýchlejšie zníženie počtu leukocytov, normalizácia počtu lymfocytov, zvýšenie obsahu zrelých T-lymfocytov, ako aj helper - induktorovej subpopulácie, normalizácia imunoregulačného indexu, výrazné zvýšenie počtu buniek s killerovou aktivitou (CD16+). Pri realizácii **EIT s použitím polyoxidonia** sa pozoroval výrazne zosilnený prejav funkčnej aktivity lymfocytov, čo sa potvrdzovalo zvýšením počtu buniek, expresujúcich markre skorej (CD25+) a neskorej (HLA-DR+) aktivácie. Pritom je **treba konštatovať aj zníženie pripravenosti lymfocytov k apoptóze** (tab.1).

V humorálnom článku imunitného systému sa pozorovalo rýchlejšie zvýšenie obsahu IgG, ako aj zníženie IgE u pacientov, ktorí dostávali EIT s PO. U nich sa takisto pozorovala podstatná normalizácia počtu CIK a zvýšenie adaptačných rezerv neutrofilov (tab.2).

Množstvo LNSMH v krvnej plazme a erytrocytov, ako aj obsah oligopeptidov v krvnej plazme u pacientov s VDS a sepsou druhej skupiny v porovnaní s analogickými ukazovateľmi u pacientov prvej skupiny boli značne znížené, čo svedčí o výraznejšom detoxikačnom efekte EIT v schéme intenzívnej terapie sepsy (tab.3).

Principiálny rozdiel a hlavná výhoda EIT v porovnaní s inými variantmi imunomodulačnej terapie je v tom, že pôsobenie na bunky imunitného systému pacienta imunomodulátormi sme uskutočňovali mimo organizmus (10). Takýto prístup umožňuje dokonca u pacientov s ťažkým a dokonca aj veľmi ťažkým stupňom výraznosti endotoxikózy úplne vyrovnať imunodepresívne pôsobenie toxických metabolitov na bunky a dosiahnuť výraznejšiu korekciu ich funkčnej aktivity. Je známe, že okrem monocytov **zdrojom produkcie protizápalových cytokínov (IL-10, IL-14) sú T-helpre druhého typu (11). V spojitosti s tým, druhým možným mechanizmom imunokorekčného efektu EIT môže byť zmena v dôsledku pôsobenia IL-2 na rovnováhu medzi rôznymi subpopuláciami T-helprov smerom k zosilneniu aktivity T-helprov prvého typu a potlačenie aktivity T-helprov druhého typu (11,13).** Reinfúzia autologenných buniek s obnovenými *ex-vivo* vlastnosťami u pacientov s VDS a sepsou stimuluje endogénnu aktiváciu celého imunitného systému, je spúšťačím faktorom následnej reintegrácie rôznych článkov imunitného systému a efektívnym prostriedkom eradikácie mikroorganizmov z krvného toku.

Celkovo použitie PO v EIT pri komplexnom liečení pacientov s VDS a sepsou ako metóda korekcie po chirurgickej terapii má svoje opodstatnenie a je efektívna v anabolickej alebo prechodovej fáze sepsy, napomáha obmedzeniu a lokalizácii patologickej systémovej infekcie vrátane rezistentnej k používaným antibakteriálnym chemoterapeutickým preparátom, umožňuje zmeniť nepriaznivý priebeh patologického procesu a v krátkej dobe dosiahnuť sanovacie, detoxikačný a imunokorekčný efekt u väčšiny pacientov, čo svedčí o účelnosti použitia imunomodulátorov v komplexnom liečení generalizovanej chirurgickej infekcie.

Tab.1 Dynamika imunitného systému bunkového reťazca u pacientov s VDS a sepsou pri EIT s použitím Polyoxidonia a pri tradičnej antibakteriálnej terapii (M ± m)

Ukazovateľ	Chorí 1-vej skupiny	Chorí 2-hej skupiny
Leukocyty abs.,x10.9/L	13,16 ± 0,7114	9,91 ± 0,4595*
Lymfocyty, %	15,71 ± 1,237	26,55 ± 1,272*
CD3: %	42,76 ± 1,69	59 ± 2,744*
Abs.	0,9018 ± 0,1113	1,563 ± 0,1427*
CD4: %	32,19 ± 1,367	41,9 ± 1,442*
Abs.	0,6942 ± 0,09399	1,107 ± 0,09286*
CD8: %	33,05 ± 1,015	28,3 ± 1,306*
Abs.	0,7006 ± 0,08336	0,7656 ± 0,0826
CD4/CD8	0,9767 ± 0,03231	1,521 ± 0,06948*
CD11b: %	22,48 ± 0,9991	21,65 ± 1,324
Abs.	0,4685 ± 0,04981	0,5594 ± 0,0405
CD16: %	8,476 ± 0,6348	12,25 ± 0,8139*
Abs.	0,1722 ± 0,02099	0,3247 ± 0,033*
CD22: %	20 ± 1,113	12,15 ± 0,9848*
Abs.	0,4416 ± 0,06644	0,3221 ± 0,037*
CD25: %	11,29 ± 1,181	17,4 ± 1,892*
Abs.	0,2228 ± 0,02744	0,4648 ± 0,064*
HLA-DR: %	10,62 ± 0,5668	14,45 ± 1,206*
Abs.	0,2148 ± 0,02001	0,3791 ± 0,039*
CD45RA: %	55,33 ± 2,326	56,95 ± 2,816
Abs.	1,109 ± 0,118	1,529 ± 0,1478*
CD95: %	7,238 ± 0,4826	3,85 ± 0,4827*
Abs.	0,1429 ± 0,01305	0,09797 ± 0,0147*

Poznámka: *-p<0,05 tuná i v ďalších tab.

Tab.2 Dynamika imunitného systému humorálneho a fagocytarného reťazca u pacientov s VDS a sepsou pri EIT s Polyoxidonia a pri tradičnej antibakteriálnej terapii (M ± m)

Ukazovateľ	Chorí 1-vej skupiny	Chorí 2-hej skupiny
IgG, g/l	8,862 ± 0,3294	10,8 ± 0,5171*
IgA, g/l	0,8524 ± 0,03753	1,155 ± 0,05806*
IgM, g/l	0,801 ± 0,02978	1,123 ± 0,06522*
IgE, ME/ml	88,95 ± 2,794	59,35 ± 4,238*
CIK, pod. jed.	157 ± 7,304	88,75 ± 4,63*
NST – test spontánny, %	28,33 ± 2,33	7 ± 0,513*
NST- test stimulovaný, %	36,05 ± 1,594	55,05 ± 2,802*

Tab. 3 Dynamika hladiny endogénnej intoxikácie u pacientov s VDS a sepsou pri EIT s Polyoxidoniom a pri tradičnej antibakteriálnej terapii (M ± m)

Ukazovateľ	Chorí 1-vej skupiny	Chorí 2-hej skupiny
LNSMH plazmy, sled.jed.	44,41 ± 2,269	18,11 ± 1,034*
LNSMHerytrocytov, sled.jed.	82,53 ± 3,044	67,28 ± 1,493*
Oligopeptídy plazmy, mg/ml	848,6 ± 20,39	748,2 ± 12,95*

Literatúra:

- 1., Bosko O. Yu.
Klinicka efektivita eferentných metód v komplexnej liečbe chorých s hnisavo – deštruktívnymi ochoreniami pľúc a plevri: Autoref. Kand. práca med. – Volgograd, 1995
- 2., Vinnickij L.I., Mironova E.V., Bunjatjan K.A., Invijaeva E.V.
Korekcia druhotnej imunitnej insuficiencie ako spôsob profilaktiky hnisavo – septických po operačných komplikácií s umelým obehom krvi.
Anesteziol. a reanimatol. 2000. No.5, s.46 – 49
- 3., Gusejnov A.Z.
Imunoterapia rannej infekcií.
Vestník nových med. technol. 1995. T.2., No. 3-4. s.89-92
- 4., Dmitrieva V.A., Samuilova D.Š., Putjato N.A., Churges I.S.
Úloha imunologických sledovaní v diagnostike bakteriálnej endokardity u chorých s vrodenými defektmi srdca
Vestník chirurgií. 1992. T.149, No. 7-9, s.147-151
- 5., Dokukina I.L.
Efektivita imunokorékčnej terapie u chorých s reumatoidnými defektmi srdca pri kardiochirurgických operáciách.
Autoref. Kand.praca med.vied Rostov na Donu, 2000
- 6., Kostjučenko A.L., Gurevič K.Ya., L'ytkin M.I.
Intenzívna terapia po operačných komplikácií.
Sb., 2000
- 7., Lukojanova T.N., Višnevskaya S.M., Mogilevskij E.B. a kol.
Bunková a humorálna imunita u chorých operovaných z dôvodu tetradi Fallo
Hrudná chirurgia. 1988. No.5, s.44-46
- 8., Malachova M.Ya., Solomennikov A.V., Bel'yakov N.A., Vlad'yka A.S.
Určenie MSH v sére krvi usadením bielkovín TChU a ultrafiltráciou.
Lab. delo. 1987. No.3, s.224-227
- 9., Mcheyan L.D.,
Vplyv kardiochirurgických zákrokov na imunoregulačné reťazce a jeho úloha pri vzniku hnisavo – septických komplikácií:
Autoref. Kand. práca med. vied. Jerevan. 1990
- 10., Patyotko M. Yu.,
Klinicko – imunologické hodnotenie použitia nového imunomodulátora polyoxidonia v komplexnej terapii hnisavo – septických komplikácií u chirurgických pacientov.
Autoref. Kand. práca med. ved. M., 1996
- 11., Yarilin A.A., Základy imunológie. Učebnica M., 1999
- 12., Gross P.A., Barrett T.L., Dellinger E.P. et al.
Quality standart for the treatment of bacteremia

Clin. Infect. Dis. 1994. Vol.18, P.428-430

13., Sjolín J.

Manipulation of the immunoinflammatory reaction in clinical sepsis

Acta Anaesthesiol. Scand. 1993. Vol.98., Suppl. P.20-24