



¹ Кубанский
государственный
медицинский
университет

² Российский
университет
дружбы народов

Сравнительное клиничко-иммунологическое исследование эффективности комплексного послеоперационного лечения, включающего программы иммуномодулирующей терапии Имунофаном, с традиционными методами послеоперационного ведения детей с различными формами нетипично протекающих острых перитонитов

И.В. Нестерова, д.м.н., проф.^{1,2}, Г.А. Чудилова, д.б.н., проф.¹,
В.Н. Чапурина¹, С.В. Ковалева, д.м.н.¹, Л.В. Ломтатидзе, к.б.н.¹,
Н.К. Барова, к.м.н.¹, В.А. Тараканов, д.м.н., проф.¹

Адрес для переписки: Ирина Вадимовна Нестерова, inesterova1@yandex.ru

Для цитирования: Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Чапурина В.Н. и др. Сравнительное клиничко-иммунологическое исследование эффективности комплексного послеоперационного лечения, включающего программы иммуномодулирующей терапии Имунофаном, с традиционными методами послеоперационного ведения детей с различными формами нетипично протекающих острых перитонитов. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (37): 8–18.

DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-37-8-18

Высокая распространенность острых перитонитов (ОП) у детей диктует необходимость поиска новых тактических приемов лечения. С учетом того что в основе иммунопатогенеза ОП лежат дисфункции нейтрофильных гранулоцитов (НГ), необходимы программы, направленные на восстановление их функционирования, способствующие оптимизации лечения и профилактике послеоперационных осложнений. Определенный интерес представляет синтетический гексапептид (ГП) –

аргинил- α -аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин. Это действующее вещество препарата Имунофан. Оно обладает регуляторным эффектом в отношении иммунной системы, в частности в отношении НГ.

Цель – провести сравнительное клиничко-иммунологическое исследование эффективности разработанных программ иммуномодулирующей терапии с использованием Имунофана, включенных в комплексное послеоперационное лечение, с традиционными методами послеоперационного лечения детей с различными формами нетипично протекающих острых перитонитов.

Материал и методы. В исследовании приняли участие иммунокомпрометированные дети в возрасте от 5 до 12 лет с различными формами ОП, находившиеся на традиционной и комплексной (с включением Имунофана) терапии. Группу 1 составили дети с местным неотграниченным ОП, группу 2 – с разлитым ОП. У пациентов были определены субпопуляции НГ CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ и CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺, фенотип по плотности экспрессии рецепторов (MFI) (FC 500, Beckman Coulter, США), фагоцитарная и NADPH-оксидазная активность до и после лечения.

Результаты. Показана клиничко-иммунологическая эффективность разработанных программ иммуномодулирующей терапии, включенных в комплексное послеоперационное лечение детей с различными формами ОП, в частности отсутствие послеоперационных осложнений, быстрый регресс симптомов интоксикации, раннее удаление дренажей на фоне восстановления адекватного функционирования НГ, связанного с реорганизацией негативно трансформированных субпопуляций НГ.

Заключение. Клиничко-иммунологические эффекты разработанных программ с использованием Имунофана обуславливают целесообразность их применения у иммунокомпрометированных детей с ОП. Их реализация будет способствовать уменьшению курсов антибактериальных препаратов, количества дней пребывания в стационаре и длительности реабилитационного периода, а также улучшению качества жизни пациентов.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, дисфункции, острый перитонит, гексапептид, иммуномодулирующая терапия, дети



Введение

Ухудшение экологической обстановки и влияние различных неблагоприятных антропогенных факторов обуславливают неуклонный рост числа вторичных дисрегуляторных расстройств иммунной системы с поражением различных ее звеньев. На фоне развития тяжелых гнойно-воспалительных процессов или рецидивирующих гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) основной причиной этого может являться дефект работы основных эффекторных и регуляторных клеток врожденного иммунитета – нейтрофильных гранулоцитов (НГ). При дисфункции в системе НГ невозможно реализовать адекватную противомикробную защиту, что приводит к развитию тяжело протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний (ИВЗ), зачастую полиэтиологических, характеризующихся рецидивированием и/или хронизацией инфекционно-воспалительного процесса.

Описаны различные дисфункции НГ с нарушением фагоцитарной и микробицидной активности [1, 2]. Неадекватное реагирование или отсутствие ответа НГ на внедрение патогенных микроорганизмов является причиной вялотекущих хронических ИВЗ, при которых использование только традиционной терапии недостаточно эффективно [3]. Нарушение функционирования НГ может стать причиной не только повышения заболеваемости ИВЗ, но и инвалидизации и даже высокой летальности при тяжелых ГВЗ [4, 5].

Нарушению функционирования НГ способствуют многие внутренние и внешние факторы, такие как дефицит питательных веществ в организме, персистирующие инфекции, нарушение нормальной микрофлоры открытых и закрытых слизистых оболочек и кожи, частое использование антибактериальных препаратов.

НГ осуществляют противобактериальную защиту путем фагоцитоза, трансмембранной дегрануляции, продукции цитокинов, образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) и эктосом [6, 7], изменяя свой фенотип с формированием новых субпопуляций, обладающих различной функциональной активностью [8, 9]. Основополагающие эффекторные процессы НГ находятся в прямой зависимости от плотности экспрессии мембранных рецепторов CD16 (FcγRIII), CD32 (FcγRII), CD11b (Mac-1/CR3A), CD64 (FcγRI), формирующих определенный фенотип клетки, а также от их кооперации. В результате кооперации могут быть запущены механизмы эффективного фагоцитоза или дегрануляции, кислородного взрыва или формирования NETs [3].

Особой проблемой является рост числа заболеваемости острым перитонитом (ОП) среди детей и связанных с ним осложнений, что диктует необходимость поиска и разработки новых

тактических приемов лечения [10, 11]. С учетом того что в основе иммунопатогенеза ОП лежат дисфункции НГ, ассоциированные с негативной трансформацией фенотипа и количественного содержания функционально-значимых субпопуляций НГ, представляется необходимым разработка программ иммуномодулирующей терапии, направленных на восстановление нормального функционирования НГ, способствующих оптимизации лечения и профилактике послеоперационных осложнений у иммунокомпрометированных детей с ОП.

Определенный интерес в связи со сказанным ранее представляет иммуностропная субстанция синтетический гексапептид (ГП) – аргинил-α-аспартиллизил-валил-тирозил-аргинин. Это аналог активного центра гормона тимуса – тимопоэтина, обладающий всеми биологическими эффектами нативного гормона [12, 13]. ГП оказывает положительное иммунорегуляторное воздействие на дефектно функционирующую иммунную систему, осуществляет регуляцию и восстановление Т-клеточного звена, нормализацию синтеза цитокинов, влияя на численность и активность НГ, моноцитов, усиливает эффективность антибактериальной терапии. Известны гепатопротективные и антиоксидантные свойства ГП, позволяющие профилактировать множественную лекарственную резистентность [12]. ГП является активной субстанцией отечественного препарата Имунофан, разрешенного к применению у детей с двух лет.

Имунофан хорошо зарекомендовал себя в лечении вторичных иммунных нарушений адаптивного иммунитета при ГВЗ [14, 15]. Однако его целенаправленное действие на НГ остается неизученным, поэтому представляет определенный научный и практический интерес.

Цель исследования

Целью нашего исследования стала сравнительная клинко-иммунологическая оценка эффективности разработанных программ иммуномодулирующей терапии с использованием Имунофана, включенных в комплексное послеоперационное лечение, с традиционными методами послеоперационного лечения детей с различными формами нетипично протекающих острых перитонитов.

Материал и методы

Для реализации проекта осуществляли иммунофенотипирование с помощью FC 500 (Beckman Coulter, США) и МКАТ (Beckman Coulter International S.A., Франция) НГ периферической крови (ПК) условно здоровых детей, детей с местным неотграниченным ОП (группа 1) и разлитым ОП (группа 2) до и после лечения, а также при выполнении экспериментальной части исследования в системе *in vitro*.



Таблица 1. Характеристика групп исследования

Группа	Количество детей	Исследование рецепторной и функциональной активности НГ	Количество исследований
<i>Экспериментальные группы в системе in vitro</i>			
Дети с местным неотграниченным ОП до лечения (группа 1)	12	Исследование НГ проведено до и после инкубации ПК с иммунотропной субстанцией ГП (10 ⁶ г/л, температура – 37 °С, 60 минут)	120
Дети с разлитым ОП до лечения (группа 2)	5		50
<i>Клинические группы</i>			
Дети с местным неотграниченным ОП после курса традиционной терапии (группа 1 ТТ)	3	Исследование НГ проведено при поступлении на стационарное лечение, после курса иммунотерапии или курса традиционной терапии	36
Дети с местным неотграниченным ОП после курса традиционной терапии с добавлением Имунофана (группа 1 ИТ)	7		84
Дети с разлитым ОП после курса традиционной терапии (группа 2 ТТ)	3		36
Дети с разлитым ОП после курса традиционной терапии с добавлением Имунофана (группа 2 ИТ)	5		60
Условно здоровые дети (группа сравнения)	35		210
Всего	35/35		596

С учетом клинической симптоматики, клинико-лабораторных показателей и этапов исследования были сформированы следующие группы (табл. 1).

Методом последовательного гейтирования определяли процентное соотношение субпопуляций НГ CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ и CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺, плотность экспрессии изучаемых рецепторов – с использованием показателя интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity – MFI). Параллельно оценивали функциональный потенциал НГ. Для оценки фагоцитарной функции НГ образцы ПК инкубировали с *Staphylococcus aureus* (штамм 209) в течение 120 минут при температуре 37 °С. Определяли также содержание активно фагоцитирующих НГ (%ФАН), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ). Для оценки киллинговой активности рассчитывали процент переваривания (%П), индекс переваривания (ИП). Активность NADPH-оксидазы НГ устанавливали с помощью NBT-спонтанного теста (NBTсп) и нагрузочного теста в системе *in vitro* (NBTст), позволяющих выявить функциональный эффекторный резерв НГ. Рассчитывали средний цитохимический индекс и процент формазан-позитивных клеток (СЦИсп, %ФПКсп и СЦИст, %ФПКст), по соотношению %ФПК в стимулированном и спонтанном NBT-тестах (%ФПКст/%ФПКсп) – коэффициент мобилизации (КМ) [16].

Отбор детей в группы проводился на базе хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края с учетом наличия клинических критериальных признаков иммунокомпрометированности [17].

Клинический статус ребенка устанавливали на основании жалоб, данных анамнеза

заболевания, жизни и развития, иммунологического анамнеза, оценки объективного статуса и клинического течения основного заболевания. Математическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2016 и StatPlus 2017. После оценки нормальности распределения лабораторных показателей применяли непараметрические статистические критерии Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты представлены в виде медианы и 25-го и 75-го квартилей.

Статистически значимые различия определяли при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При проведении исследования использовался разработанный нами алгоритм иммунодиагностики дефектов функционирования НГ у детей разного возраста с различными нетипично протекающими ГВЗ, который включал оценку критериальных признаков иммунокомпрометированности пациентов [17], количества НГ и особенностей трансформации фенотипов CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ и CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, отражающих тяжесть ГВЗ, а также эффекторных функций НГ, а именно фагоцитоз с бактериальным антигеном (БАГ) с параллельной оценкой количества активно фагоцитирующих НГ, процессов захвата, киллинга и переваривания, спонтанной и индуцированной кислород-зависимой микробицидности. Исходя из анамнеза, в группе 1 частота эпизодов ОРВИ составляла более десяти в год с продолжительностью острого периода более десяти дней, протекающих с осложнениями в виде бактериальных инфекций ЛОР-органов и респираторного тракта шесть и более раз в год и требующих антибактериальной терапии.



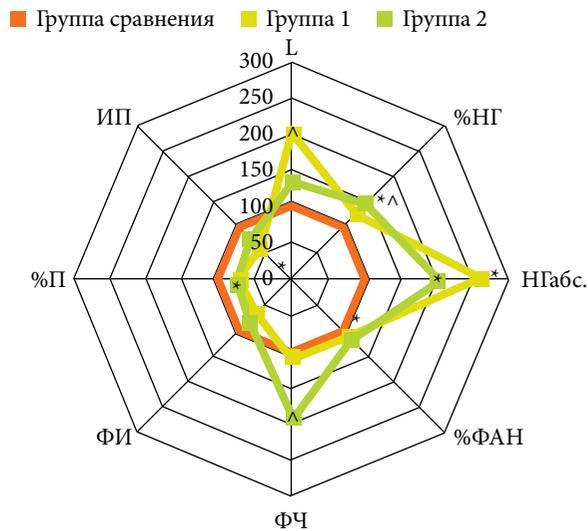
В группе 2 частота рекуррентных респираторных инфекций составляла 12 и более в год с продолжительностью заболевания 14–21 дней и более, которые зачастую осложнялись присоединением вторичной бактериальной инфекции верхних и нижних дыхательных путей, ЛОР-органов – восемь раз в год и более, обострением хронических заболеваний респираторного тракта и ЛОР-органов. Детям данной группы назначали антибактериальные препараты курсами – восемь раз в год и более, в том числе парентерально.

Клинические проявления ОП у таких пациентов различались, что во многом зависело от наличия дисфункций НГ.

Показано, что у детей с неотграниченным ОП имело место увеличение количества НГ до 12,5 (10,8–19,9) против 6,4 (5,2–7,4) г/л по сравнению с условно здоровыми детьми ($p < 0,05$). В группе 1 относительно группы сравнения также зафиксировано повышение %ФАН – 60,2 (60,0–74,0)% против 55,3 (50,0–57,0)% ($p < 0,05$) на фоне снижения показателей переваривающей активности НГ (%П 45,3 (39,8–63,8)% против 62,6 (57,9–62,9)%, ИП 0,9 (0,7–1,2) против 1,6 (1,3–1,9); $p_{1,2} < 0,05$). При этом показатели NADPH-оксидаз – %ФПКсп, СЦИсп находились на том же уровне, что и в группе сравнения ($p_{1,2} > 0,05$), и отмечалась лишь незначительная тенденция к увеличению при стимуляции *S. aureus* в стимулированном NBT-тесте ($p_{1,2} > 0,05$), что свидетельствовало о низкой микробицидной активности. В группе 2 выявлена блокада ответа со стороны НГ на тяжелый инфекционно-воспалительный процесс: отсутствие увеличения количества циркулирующих НГ в ПК, а также адекватного ответа на дополнительную бактериальную антигенную нагрузку (*S. aureus*), поскольку значения, отражающие фагоцитарную способность НГ, были аналогичными показателям группы сравнения. Вместе с тем в отличие от группы сравнения активность NADPH-оксидаз значительно увеличилась в спонтанном тесте (%ФПКсп и СЦИсп – 12,5 (3,8–21,0) и 0,37 (0,12–0,62) против 2,0 (1,0–3,7) и 0,09 (0,06–0,11); $p_{1,2} < 0,05$) и резко снизилась при дополнительной стимуляции БАГ (%ФПКст и СЦИст – 4,0 (1,5–14,0) и 0,12 (0,06–0,40) против 2,0 (1,0–3,7) и 0,09 (0,06–0,11); $p_{1,2} < 0,05$), что свидетельствовало о напряженности и отсутствии резервного микробицидного потенциала НГ (рис. 1).

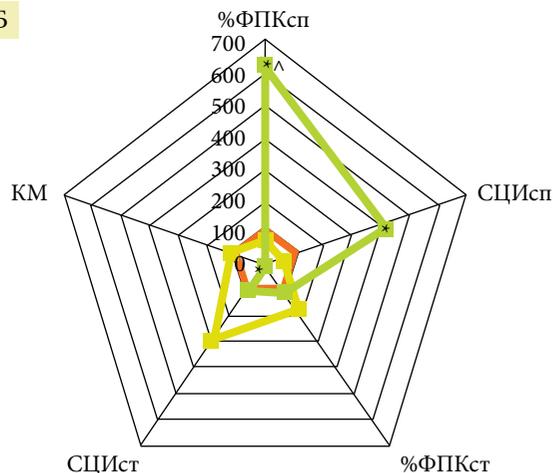
В основе нарушений функциональной активности НГ лежит изменение доли функционально-значимых субпопуляций НГ с негативно трансформированным фенотипом. Так, в группе 1 в отличие от группы сравнения выявлено изменение фенотипов изучаемых субпопуляций за счет перераспределения плотности экспрессии: снижения уровня MFI CD32 в обеих субпопуляциях на 62,8 и 26,2% соответственно

А



■ Группа сравнения ■ Группа 1 ■ Группа 2

Б



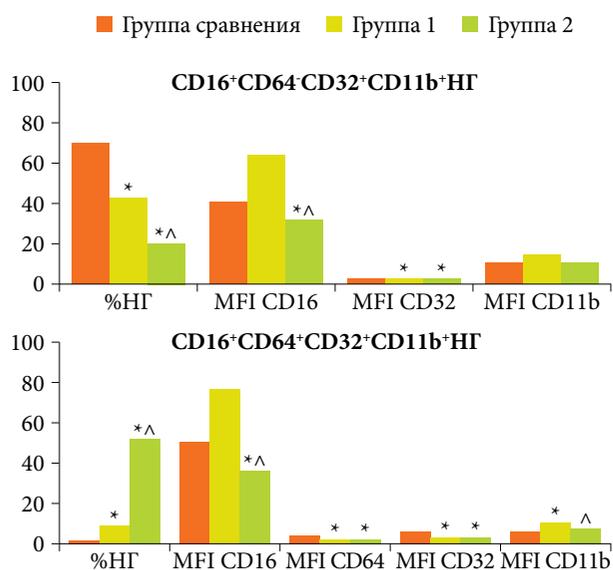
* Значимые различия относительно показателей группы сравнения, $p < 0,05$.

^ Значимые различия между показателями группы 1 и группы 2, $p < 0,05$.

Рис. 1. Показатели фагоцитарной (А) и микробицидной активности (Б) НГ у детей с местным неотграниченным и разлитым ОП

($p_{1,2} < 0,05$), снижения уровня MFI CD64 на 56,9% ($p < 0,05$) и повышения уровня MFI CD11b на 97,9% ($p < 0,05$) в субпопуляции CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ. Кроме того, доля субпопуляции CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ увеличилась более чем в 40 раз ($p < 0,05$) за счет снижения содержания субпопуляции CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ на 24% ($p < 0,05$) (рис. 2, табл. 2 и 3).

При анализе субпопуляционного состава НГ в группе 2 также установлено перераспределение изучаемых субпопуляций: снижение на 69,7% субпопуляции CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ



* Значимые различия относительно показателей группы сравнения, $p < 0,05$.
 ^ Значимые различия между показателями группы 1 и группы 2, $p < 0,05$.

Рис. 2. Содержание и фенотипические особенности субпопуляций $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ и $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ у детей с ОП

($p < 0,05$), в группе сравнения повышение с 0,6 (0,3–0,7) до 60,7 (39,5–81,0) субпопуляции $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ и изменение их фенотипов $CD16^{dim}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$ и $CD16^{dim}CD64^+CD32^{mid}CD11b^{dim}$, что свидетельствовало о снижении способности НГ реализовывать эффекторные функции, быстро элиминировать БАГ и ограничивать

воспалительную реакцию на местном уровне и было сопоставимо с тяжестью разлитого ОП (см. рис. 2).

После проведенного стационарного лечения у детей с различными формами ОП, получавших только традиционную терапию (ТТ), были отмечены позитивные клинические эффекты, свидетельствующие об улучшении течения заболевания, однако не нормализовалось функционирование НГ, что в дальнейшем может приводить к развитию послеоперационных осложнений и часто рецидивирующим ГВЗ. Так, в группе 1 ТТ количество активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) относительно показателей до лечения снизилось на 34,2% ($p < 0,05$) с сохранением дефекта переваривающей активности (%П и ИП; $p_{1,2} > 0,05$), микробицидная активность НГ при дополнительной стимуляции БАГ (%ФПКст) – на 86,7%, СЦИст – на 82,6% ($p_{1,2} < 0,05$) с истощением мобилизационного резервного потенциала ($p > 0,05$). Аналогичное сохранение дефектов НГ было отмечено в группе 2 ТТ. При сравнении с показателями группы 2 также отмечалось снижение активно фагоцитирующих НГ (на 33,9%; $p < 0,05$), процессов захвата (ФЧ на 52%; $p < 0,05$ и ФИ на 11%; $p > 0,05$) и истощение NADPH-оксидазной микробицидной активности. Выявленные сохраняющиеся нарушения микробицидного потенциала НГ были наглядно продемонстрированы и подтверждены при изучении функционально-значимых субпопуляций $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ и $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$, содержание которых и фенотипические характеристики не отличались от показателей до лечения

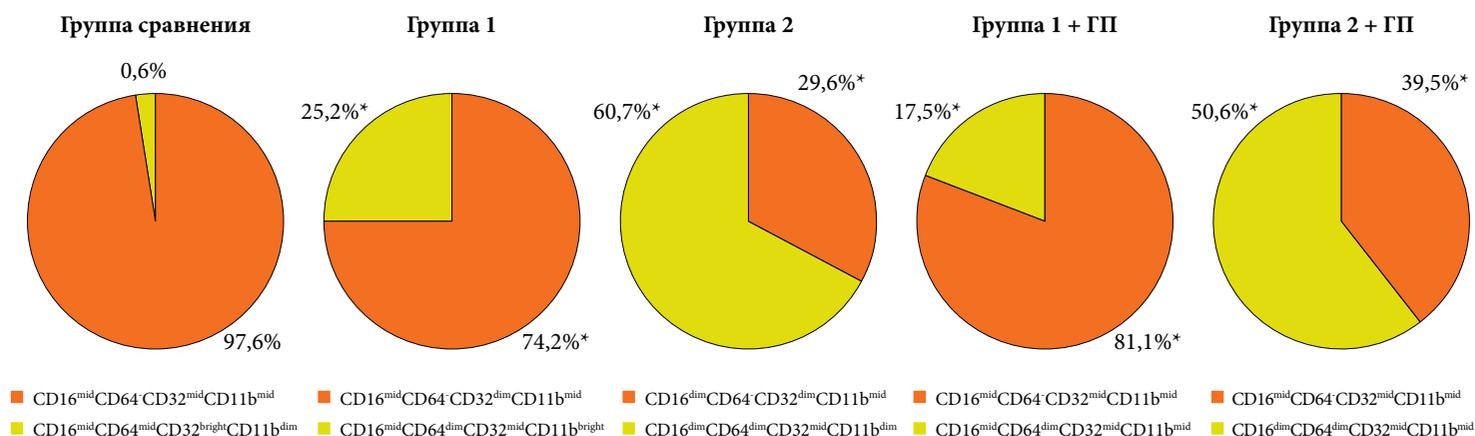
Таблица 2. Влияние иммуномодулирующей терапии на фенотип субпопуляции $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ у детей с различными формами ОП (Ме ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$))

Группы	%НГ	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b
Группа сравнения	Фенотип $CD16^{mid}CD64^+CD32^{mid}CD11b^{mid}$			
	97,6 (95,4–99,2)	91,1 (83,7–102,0)	6,5 (5,8–8,9)	17,4 (15,3–19,3)
Группа 1	Фенотип $CD16^{mid}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$			
	74,2* (54,6–84,5)	99,8 (85,6–105,0)	4,8 (3,8–7,0)	22,7 (18,3–32,0)
Группа 1 ТТ	Фенотип $CD16^{mid}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$			
	80,1* (51,8–82,8)	93,5 (85,9–100,1)	4,5 (3,4–6,8)	21,3 (15,6–29,3)
Группа 1 ИТ	Фенотип $CD16^{bright}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$			
	93,7^# (92,2–94,9)	134,0 (96,3–145,0)	3,6*^ (2,7–3,9)	18,2 (11,9–22,5)
Группа 2	Фенотип $CD16^{dim}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$			
	29,6* (18,1–45,2)	43,7* (33,5–63,9)	4,6* (4,4–5,6)	14,5 (11,3–22,3)
Группа 2 ТТ	Фенотип $CD16^{dim}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{mid}$			
	40,1* (20,9–46,9)	57,4* (40,2–64,7)	4,0* (3,7–5,2)	16,9 (14,5–23,6)
Группа 2 ИТ	Фенотип $CD16^{mid}CD64^+CD32^{dim}CD11b^{bright}$			
	95,9 (91,9–96,7)	89,3 (88,0–108,0)	3,8* (2,7–4,8)	25,7* (22,5–28,4)

* Значимые различия относительно группы сравнения, $p < 0,05$.

^ Значимые различия показателей до лечения по сравнению с показателями групп после лечения, $p < 0,05$.

Значимые различия показателей групп ТТ относительно показателей групп, получавших ИТ.



* Значимые различия относительно показателей группы сравнения, $p < 0,05$.

Рис. 3. Модулирующие эффекты влияния гексапептида в системе *in vitro* на количественное соотношение и фенотип субпопуляций НГ у детей с различными формами ОП (значения представлены в виде Me)

Таблица 3. Влияние иммуномодулирующей терапии на фенотип субпопуляции $CD16^+CD64^+CD32^+CD11b^+НГ$ у детей с различными формами ОП (Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$))

Группы	%НГ	MFI CD16	MFI CD64	MFI CD32	MFI CD11b
Группа сравнения	Фенотип $CD16^{mid}CD64^{mid}CD32^{bright}CD11b^{dim}$				
	0,6 (0,3–0,7)	85,4 (80,0–91,4)	6,5 (4,8–7,3)	15,3 (10,9–15,4)	14,7 (12,2–17,3)
Группа 1	Фенотип $CD16^{mid}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{bright}$				
	25,2* (20,6–31,0)	98,2 (78,1–125,0)	2,8* (2,6–3,1)	5,7* (4,6–7,0)	29,1* (27,8–39,0)
Группа 1 ТТ	Фенотип $CD16^{mid}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{bright}$				
	14,0* (12,9–27,9)	80,1 (73,3–90,9)	2,7* (2,3–3,0)	5,3* (4,8–6,9)	28,2* (26,6–35,4)
Группа 1 ИТ	Фенотип $CD16^{bright}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{mid}$				
	1,4*^# (1,2–2,5)	147,0*^# (124,5–165,5)	3,8*^# (3,2–3,9)	7,5 (5,6–13,1)	24,3*^# (20,2–26,3)
Группа 2	Фенотип $CD16^{dim}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{dim}$				
	60,7* (39,5–81,0)	41,4* (31,4–60,8)	2,9* (2,6–3,2)	4,8* (4,2–5,8)	16,0 (12,6–24,3)
Группа 2 ТТ	Фенотип $CD16^{dim}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{dim}$				
	56,7* (42,3–77,8)	60,0* (40,3–62,1)	2,8* (2,6–3,4)	4,6* (4,0–6,2)	17,3 (14,6–25,2)
Группа 2 ИТ	Фенотип $CD16^{bright}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{bright}$				
	0,7^# (0,5–1,6)	123,5*^# (111,6–127,5)	2,9 (2,3–5,7)	5,3* (3,8–7,1)	45,6* (21,9–47,0)

* Значимые различия относительно группы сравнения, $p < 0,05$.

^ Значимые различия показателей до лечения по сравнению с показателями групп после лечения, $p < 0,05$.

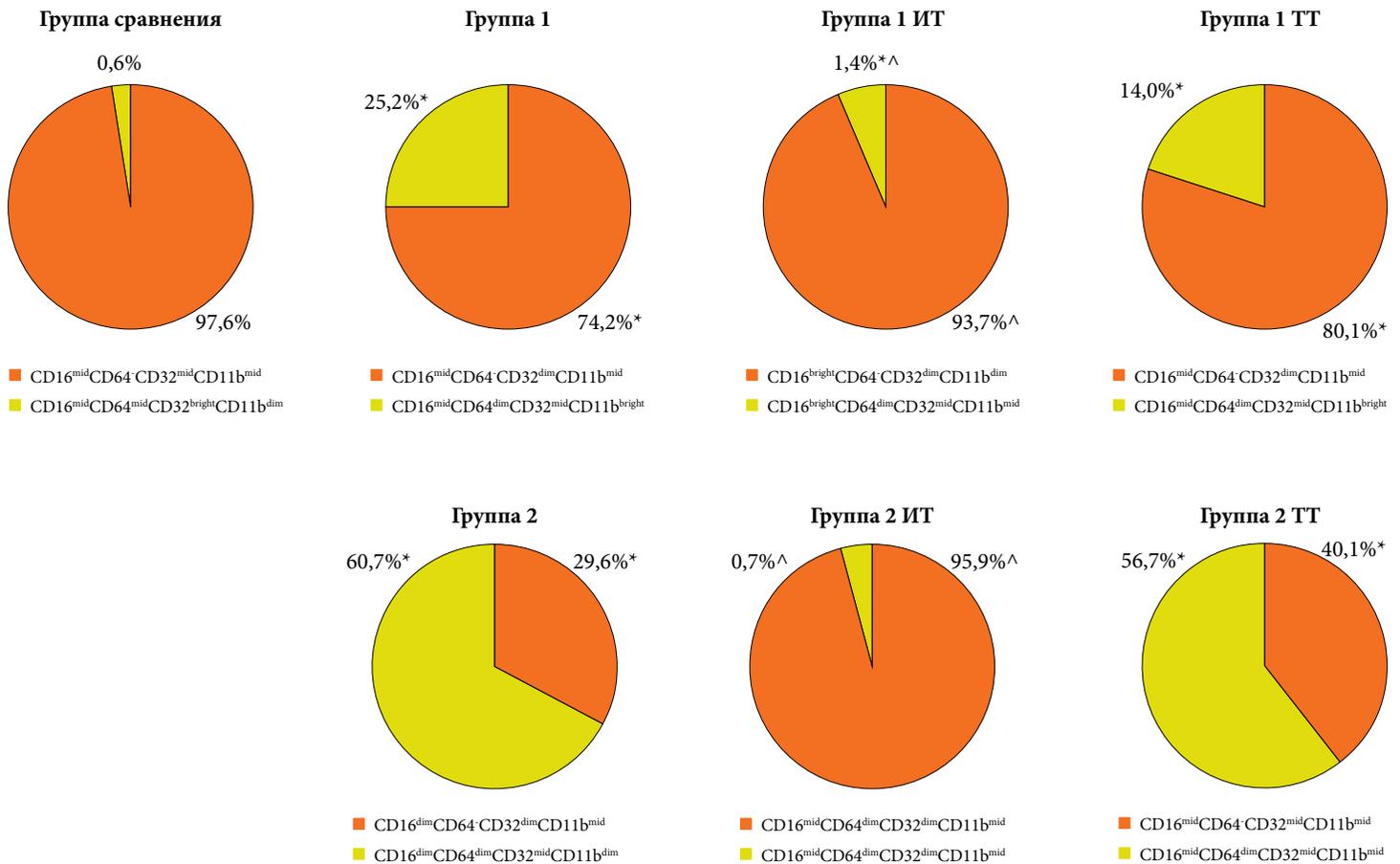
Значимые различия показателей групп ТТ относительно показателей групп, получавших ИТ.

Местный неотграниченный ОП	Разлитой ОП
Имунофан 45 мг/1 мл внутримышечно ежедневно 5 дней, далее через 48 часов – однократно	Имунофан 45 мг/1 мл внутримышечно ежедневно 5 дней, далее через каждые 48 часов – 5 инъекций
Курс 6 инъекций	Курс 10 инъекций

Рис. 4. Программы иммуномодулирующей терапии с применением Имунофана у детей с нетипично протекающими ОП

в группах 1 и 2 соответственно ($p > 0,05$) (см. табл. 2 и 3).

В связи с этим возникла необходимость разработки таргетной иммунокоррекции, направленной на восстановление системы НГ. Поэтому в закрытой системе *in vitro* было проведено исследование эффектов иммуностропной субстанции ГП в ПК у детей с местным неотграниченным и разлитым ОП и определен его



* Значимые различия относительно показателей группы сравнения, $p < 0,05$.

[^] Значимые различия показателей групп до лечения по сравнению с показателями групп после лечения, $p < 0,05$.

Рис. 5. Сравнение иммунологической эффективности программ иммуномодулирующей терапии и традиционного лечения в отношении фенотипа и количественного соотношения субпопуляций НГ у детей с различными формами ОП (значения представлены в виде Me)

модулирующий эффект. Под влиянием ГП отмечалось увеличение содержания субпопуляции CD16⁺CD64⁻CD32⁺CD11b⁺НГ и восстановление ее фенотипических характеристик за счет усиления плотности экспрессии CD16- и CD32-рецепторов – CD16^{mid}CD64⁻CD32^{mid}CD11b^{mid} в обеих группах до показателей группы сравнения. В субпопуляции CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺НГ также наблюдались не только количественные (в группе 1 доля данной субпопуляции снизилась на 30,5%, в группе 2 – на 16,6% относительно соответствующих показателей НГ групп до инкубации; $p_{1,2} > 0,05$), но и фенотипические изменения. В последнем случае речь, в частности, идет о трансформации фенотипа CD16^{mid}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{mid} при местном неотграниченном ОП и CD16^{dim}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{dim} при разлитом ОП (рис. 3). Разнонаправленные реорганизации трансформированного фенотипа НГ под воздействием ГП способствовали восстановлению процессов захвата и переваривания в обеих группах. При этом в группе 1 было отмечено усиление микробицидной активности,

в группе 2 – снижение напряженности NADPH-оксидаз в спонтанном NBT-тесте и сохранение резервного потенциала НГ при дополнительной стимуляции БАГ. Выявленные эффекты ГП послужили основанием выбора препарата Имунофан, № Р N000106/04, основной действующей субстанцией которого является ГП, для коррекции дисфункций НГ у детей с различными ГВЗ.

С учетом глубины выявленных дефектов и тяжести течения инфекционного процесса у детей с различными формами ОП нами были разработаны программы таргетной иммуномодулирующей терапии (ИТ), включенные в комплексную послеоперационную терапию (рис. 4).

У детей с местным неотграниченным и разлитым ОП, получавших комплексное послеоперационное лечение с Имунофаном, отмечалась компенсация иммунологических нарушений, чего не наблюдалось в соответствующих группах, находившихся на ТТ. В группе 1 ИТ уровень субпопуляции CD16⁺CD64⁻CD32⁺CD11b⁺НГ достиг значений группы сравнения ($p < 0,05$), а фенотип субпопуляции

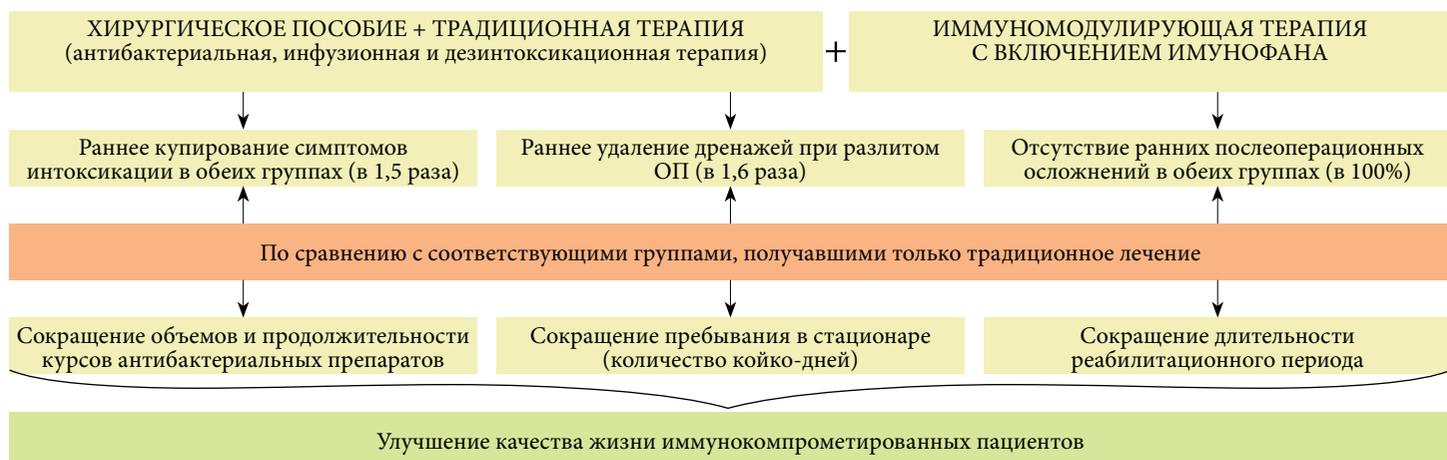


Рис. 6. Сравнительная характеристика клинической эффективности программ иммуномодулирующей терапии и традиционного лечения у детей с различными формами ОП

характеризовался снижением уровня MFI CD32 на 25% ($p < 0,05$), тенденцией к увеличению уровня MFI CD16 ($p > 0,05$) и изменением фенотипического профиля $CD16^{bright}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{mid}$ относительно показателей группы 1 (см. табл. 2 и рис. 5). В группе 1 уровень субпопуляции $CD16^{+}CD64^{+}CD32^{+}CD11b^{+}H\Gamma$ снизился на 94,4% от показателей до лечения, а также наблюдалась реорганизация фенотипа $CD16^{bright}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{mid}$ с повышением на 49,0% уровня MFI CD16, на 35,7% уровня MFI CD64 на фоне снижения на 16,5% уровня MFI CD11b ($p_{1-3} < 0,05$) (см. табл. 3 и рис. 5).

У детей с разлитым ОП с глубокими дефектами системы НГ после курса комплексной послеоперационной терапии с Имунофаном также наблюдалось количественное восстановление субпопуляции $CD16^{+}CD64^{+}CD32^{+}CD11b^{+}$ до значений у условно здоровых детей ($p > 0,05$) за счет снижения на 98,8% содержания субпопуляции $CD16^{+}CD64^{+}CD32^{+}CD11b^{+}H\Gamma$ ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до лечения и появление новых фенотипических профилей $CD16^{mid}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{bright}$ (см. табл. 2 и рис. 5) и $CD16^{bright}CD64^{dim}CD32^{mid}CD11b^{bright}$ (см. табл. 3 и рис. 5).

При комплексной оценке функциональных возможностей НГ также установлено восстановление процессов захвата и переваривания, нормализация спонтанной и индуцированной NADPH-оксидазной активности с сохранением (в группе 1) или восстановлением (в группе 2) резервных микробицидных возможностей НГ.

Использование в комплексном лечении детей с местным неотграниченным и разлитым ОП иммуномодулирующей терапии с Имунофаном обеспечивало высокую клиническую эффективность. Так, в группе 1 ИТ субфебрильная температура тела отмечалась в течение 2,0 (1,0–2,5) дня в послеоперационном периоде, тогда как в группе 1 ТТ – на 2–3 дня дольше, то есть в течение

5,0 (4,5–5,0) дня. Другие проявления интоксикационного синдрома (бледность кожных покровов, тошнота, слабость, головокружение) в группе 1 ИТ регрессировали через 3,5 (3,0–5,0) дня. В группе 1 ТТ продолжительность интоксикационного синдрома составила 5,5 (5,0–7,0) дня. В группе 1 ИТ ранних осложнений послеоперационного периода в виде нагноения швов не зарегистрировано. В группе 1 ТТ не обнаружено восстановления адекватного функционирования НГ. Как следствие, в послеоперационном периоде нагноение швов отмечалось у всех детей данной группы с продолжительностью выделенной гнойной характеры из послеоперационной раны до 4,0 (3,5–4,0) дня, однако это не требовало дополнительного хирургического пособия (рис. 6).

В группе 2 ИТ в послеоперационном периоде подъем температуры тела до субфебрильных цифр с литическим снижением наблюдался в течение 4,0 (3,0–4,5) дня, тогда как в группе 2 ТТ нормализация субфебрильной температуры зафиксирована только к 6,0 (5,5–6,5) дню. Выраженный интоксикационный синдром после операции в группе 2 ИТ регистрировался в более ранние сроки, чем в группе 2 ТТ, – через 5,0 (4,5–5,5) и 7,5 (6,5–8,0) дня соответственно. Сократилось в два раза количество койко-дней, проведенных в отделении реанимации, у получавших ИТ с первых послеоперационных суток. Так, в группе 2 ИТ количество койко-дней составило 2,0 (1,0–2,5), в группе 2 ТТ – 4,0 (3,5–4,0). Дренажирование брюшной полости в группе 2 ТТ было продолжительным и составило 5,0 (4,5–5,0) дня, в группе 2 ИТ – 3,0 (2,0–3,0) дня с последующим удалением дренажа, что существенно снижает риск вторичного инфицирования. Следует отметить, что в группе 2 ИТ не наблюдалось нарушения нормальной моторики желудочно-кишечного тракта,



тогда как в группе 2 ТТ в 80% случаев встречался парез кишечника, являющийся дополнительным источником интоксикации, симптомы которого купировались через шесть дней после операции (см. рис. 6).

Полученные результаты в отношении положительных клинико-иммунологических эффектов Имунофана при добавлении к комплексному лечению детей с различными формами нетипично протекающих ОП согласуются с данными литературы о положительном влиянии препарата в составе комплексной терапии различных иммунозависимых заболеваний, таких как туберкулез, гепатит, псориаз, дифтерия, хронический бруцеллез, злокачественных заболеваний, оппортунистических инфекций, тяжелых ГВЗ [14, 15, 18–20].

Заключение

Сравнение иммунопатогенетически обоснованного использования Имунофана в комплексном лечении детей с нетипично протекающими местным неотграниченным и разлитым ОП с традиционной терапией показало выраженную клинико-иммунологическую эффективность первого метода. Восстановление соотношения функционально-значимых субпопуляций НГ, ремоделирование их негативно трансформированных фенотипов и, как следствие, полноценное восстановление микробицидных функций в 100% случаев позволило избежать ранних послеоперационных осложнений. Несмотря

на позитивные клинические эффекты, при использовании только традиционной терапии не отмечалось восстановления дефектов системы НГ, что проявлялось в виде нагноения швов (у 100% детей с местным неотграниченным ОП) и пареза кишечника (у 80% детей с разлитым ОП). Как следствие, требовалась дополнительная симптоматическая терапия.

Оптимизация лечения с помощью Имунофана на фоне восстановления дисфункций НГ повлияла на клинические проявления различных форм ОП. В частности, наблюдалось уменьшение длительности лихорадочного периода в 2,5 и 1,5 раза в группах с местным неотграниченным и разлитым ОП соответственно, выраженности интоксикационного синдрома в 1,5 раза в обеих группах, в 1,6 раза случаев дренирования брюшной полости, в 2 раза сроков пребывания в реанимационном отделении (при разлитом ОП).

Таким образом, использование разработанных дифференцированных программ, учитывающих тяжесть течения воспалительного процесса и глубину дефектов функционирования НГ, в составе комплексного послеоперационного лечения детей с различными формами нетипично протекающих ОП не только эффективно, но и целесообразно. 🌟

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 121031000071-4.

Литература

1. Dinauer M.C. Disorders of neutrophil function: an overview. *Methods Mol. Biol.* 2014; 1124: 501–515.
2. De Oliveira-Junior E.B., Bustamante J., Newburger P.E., Condino-Neto A. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. *Scand. J. Immunol.* 2011; 73 (5): 420–427.
3. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В. и др. Нейтрофильные гранулоциты: отражение в зеркале современных представлений / под ред. И.В. Нестеровой, Г.А. Чудиловой. М.: Capricorn Publishing, 2018.
4. Савченко А.А., Борисов А.Г., Черданцев Д.В. и др. Особенности фенотипа и активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ нейтрофилов у больных распространенным гнойным перитонитом в прогнозе развития сепсиса. *Инфекция и иммунитет.* 2018; 8 (3): 369–376.
5. Шен С.Ф., Гуан В.С., Ду Д.Ф., Пузырева Л.В. Нарушение апоптоза нейтрофилов при сепсисе. *Инфекция и иммунитет.* 2018; 8 (2): 119–126.
6. Долгушин И.И. Нейтрофильные гранулоциты: новые лица старых знакомых. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18 (1): 30–37.
7. *Neutrophils* / ed. by M. Khajah. London: Intechopen limited, 2019.
8. Silvestre-Roig C., Fridlender Z.G., Glogauer M., Scapini P. Neutrophil diversity in health and disease. *Trends Immunol.* 2019; 40 (7): 565–583.
9. Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., et al. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection. *Clin. Immunol.* 2017; 176: 100–106.
10. Власов А.П., Аль-Кубайси Ш., Власова Т.И. и др. Состояние системы гемостаза при остром тяжелом перитоните на фоне терапии Ремаксолом. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2019; 2: 65–71.
11. Завьялкин В.А., Барская М.А. Комплексный подход к лечению распространенного перитонита у детей. *Медицинский альманах.* 2019; 5–6 (61): 53–57.
12. Lebedev V.V., Novikov S.A. Hydrophilic hexapeptide imunofan as a hyperactive regulator of transport proteins for multiple drug resistance. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2006; 142 (6): 693–695.



13. Лебедев В.В., Новиков С.А. Гидрофильный гексапептид имунофан – гиперактивный регулятор транспортных белков множественной лекарственной устойчивости. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006; 142 (12): 649–651.
14. Маркова Т.П., Чувиров Д.Г. Имунофан в комплексном лечении детей с повторными респираторными заболеваниями и микоплазменной инфекцией. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (12): 12–18.
15. Кологривова Е.Н., Плешко Р.И., Щербик Н.В. и др. Влияние интраназального применения Имунофана на активность фагоцитов при комплексной терапии экссудативного среднего отита у детей. Медицинская иммунология. 2020; 22 (4): 741–750.
16. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В. и др. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. Методические рекомендации. Краснодар, 2017.
17. Нестерова И.В., Малиновская В.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А. Интерфероно- и иммунотерапия в лечении нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний у детей и взрослых. М.: Capricorn Publishing, 2020.
18. Разин М.П., Кулаева А.С., Аксенова А.А. и др. Интраоперационная иммунокоррекция в лечении детей с врожденным гидронефрозом. Медицинское образование сегодня. 2020; 2: 32–39.
19. Малиев Б.М., Басиева О.З., Хетагурова С.Б., Туаллагова Э.Т. Сравнительное изучение эффективности препаратов Имунофан и Тубосан у больных впервые выявленным туберкулезом легких. Туберкулез и болезни легких. 2019; 97 (6): 63–64.
20. Кузнецова Р.Н., Сысоев К.А., Лебедев В.В. и др. Особенности изменений местного иммунитета у больных с хроническим аденоидитом и возможности их коррекции препаратом имунофан. Медицинская иммунология. 2008; 10 (6): 551–562.

Comparative Clinical and Immunological Study of the Effectiveness of Complex Postoperative Treatment, Including Immunomodulatory Therapy with Imunofan, with Traditional Methods of Postoperative Management of Children with Various Forms of Atypical Acute Peritonitis

I.V. Nesterova, MD, PhD, Prof.^{1,2}, G.A. Chudilova, MD, PhD, Prof.¹, V.N. Chapurina¹, S.V. Kovaleva, MD, PhD¹, L.V. Lomtatzidze, PhD¹, N.K. Barova, PhD¹, V.A. Tarakanov, MD, PhD, Prof.¹

¹ Kuban State Medical University

² Peoples' Friendship University of Russia

Contact person: Irina V. Nesterova, inesterova1@yandex.ru

The prevalence of acute peritonitis (AP) in children dictates the need to search for tactics in the treatment of these patients. Considering that the immunopathogenesis of AP is based on the dysfunction of neutrophil granulocytes (NG), programs are needed to restore their functioning, contributing to the optimization of treatment and prevention of postoperative complications. Of particular interest is a synthetic hexapeptide (HP): arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine, the active ingredient of the pharmaceutical Imunofan, which has a regulatory effect on the immune system, and in particular on NG.

Aim – to conduct a comparative clinical and immunological study of the effectiveness of the developed immunomodulatory therapy programs using Imunofan included in complex postoperative treatment with traditional methods of postoperative treatment of children with various forms of atypically occurring acute peritonitis.

Material and methods. A study of immunocompromised children aged 5–12 years with various forms of AP, who are on traditional therapy and complex therapy with the inclusion of Imunofan: group 1 – children with local non-delimited AP, group 2 – children with spilled AP. Subsets of NG CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺ and CD16⁺CD64⁺CD32⁺CD11b⁺, phenotype by receptor expression density (MFI) (FC 500 'Beckman Coulter', USA), phagocytic and NADHP oxidase activity before and after treatment were determined.

Results. The clinical and immunological effectiveness of the developed immunomodulatory therapy programs included in the complex postoperative treatment of children with various forms of AP is shown: absence of postoperative complications, rapid regression of intoxication symptoms, early removal of drains against the background of restoration of adequate functioning of NG associated with the reorganization of negatively transformed subpopulations of NG in comparison with the corresponding groups who received only traditional treatment.

Conclusion. The positive clinical and immunological effects of the developed programs with the use of Imunofan determine the expediency of their use in immunocompromised children with OP, which contributes to reducing the courses of antibacterial drugs, reducing the days of the patient's stay in the hospital, the duration of the rehabilitation period and improving the quality of life of patients.

Key words: neutrophilic granulocytes, dysfunction, acute peritonitis, hexapeptide, immunomodulatory therapy, children