

**УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ
НАУК НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИ-
ЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ СЕВЕРА СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РАМН**

ООО «МедБиоТех»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор НИИ медицинских
проблем Севера СО РАМН,
член-корр. РАМН, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ
В.Т. Манчук

«УТВЕРЖДАЮ»

Министр здравоохранения
Красноярского края

В.Н. Янин

Директор ООО «МедБиоТех»
к.м.н. А.Г.Борисов

А.А. Савченко, А.Г. Борисов

**ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПОДБОР ИММУНОАКТИВНЫХ
ПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ХЕМИ-
ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА**

Методические рекомендации

Красноярск - 2011 г.

Савченко А.А., Борисов А.Г. Индивидуальный подбор иммуноактивных препаратов с использованием метода хемилюминесцентного анализа (методические рекомендации): Методические рекомендации/ А.Г. Борисов, А.А. Савченко.- Красноярск, 2011.- 29 с.

В методических рекомендациях в доступной и сжатой форме представлена информация о принципах иммуноактивной терапии при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний. Описаны методы подбора иммуноактивных препаратов с использованием методов хемилюминесцентного анализа.

Методические рекомендации рекомендованы не только для иммунологов, но и для врачей всех специальностей.

Авторы:

Савченко Андрей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярно клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, заведующий кафедрой физиологии им. проф. А.Т. Пшоника Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого.

Борисов Александр Геннадьевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН.

Рецензенты

доктор медицинских наук, профессор Л.М. Куртасова
доктор медицинских наук, О.В.Смирнова

Рекомендовано Ученым Советом НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (Протокол № _____ от _____) в качестве методических рекомендаций для врачей всех специальностей.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система в связи с ее функциональными задачами участвует прямо или опосредованно в развитии практически всех заболеваний. Поэтому без нормализации работы иммунной системы не возможно окончательное выздоровление больного. В настоящее время не возникает вопросов о необходимости проведения иммуноактивной терапии. Если иммунные нарушения не восстановить у больного могут развиваться различные осложнения. Повышается риск развития опухолей (особенно на фоне длительной вирусной репликации), аутоиммунной патологии, различных видов аллергий. С дисфункцией иммунной системы связано развитие хронических форм патологии.

Применение традиционного лечения, основанного на антибактериальной терапии, нередко бывает малоэффективным или вообще неэффективным. Очевидно, что без повышения иммунологической реактивности трудно (или невозможно) добиться хорошего клинического эффекта при различных хронических инфекционно-воспалительных процессах. Одним из главных методов коррекции иммунитета является применение иммуноактивных препаратов. В настоящее время врач-иммунолог располагает достаточно большим арсеналом таких лекарственных средств. Применение иммуноактивных препаратов при лечении больных с различной патологией не требует обоснования. Однако при всей очевидности, использование такой терапии в комплексном лечении пациентов представляет собой сложную задачу и не может в настоящее время считаться разработанной. С одной стороны, нет четких критериев применения конкретных препаратов при тех или иных иммунных нарушениях, с другой стороны, большинство препаратов не обладают четкой тропностью действия. При этом необходимо помнить, что для каждого пациента лекарственные средства действуют индивидуально в зависимости от генетических особенностей пациента, характера течения заболевания и особенности обменных процессов больно-

го на момент приема препарата. Все это заставляет искать индивидуальные методы подбора иммуноактивных препаратов. Одно из таких направлений оценка действия лекарственных средств *in vitro*.

Один из таких методов способных оценить морфологический гомеостаз и защитные реакции организма хемилюминесцентный анализ. С помощью этого метода характеризуется функциональная активность лейкоцитов крови, которое особенно имеет важное значение при инфекционно-воспалительных и онкологических заболеваниях [4,5,7,11]. Это определяется тем, что, с одной стороны, лейкоциты в случае функциональной активации не только генерируют цитотоксические продукты, но и выделяют биологически активные вещества, влияющие на состояние других эффекторов воспаления, в то время как с другой стороны, богатый набор рецепторов у лейкоцитов делает их высокочувствительными клетками к разнообразным нарушениям гомеостаза организма [5,7,10]. При этом, воспринимая многочисленные сигналы о дестабилизации внутренней среды, фагоциты активируют свои функции, нацеленные на ее восстановление. Данный универсальный принцип лежит в основе всех фагоцитарных реакций, делая их индикатором нормы и патологии, благополучия и неблагополучия организма [5].

Большинство клинических исследований по фагоцитозу проведено на гранулоцитарных клетках крови, причем наиболее изученными оказались нейтрофилы [1,2,9]. В результате было установлено, что гранулоцитарные клетки являются наиболее удобным объектом клинико-лабораторного анализа для исследования фагоцитарной функции, так как белые клетки крови чувствительны к широкому спектру эндогенных и экзогенных агентов, а также обладают мощным эффекторным потенциалом.

Помимо этого инкубация лейкоцитов с иммуноактивными препаратами позволяет нам смоделировать процесс воздействия препаратов на ор-

ганизм человека и на основании этого дать предварительный прогноз о действии такого препарата.

В связи с этим, появляется необходимость широкого внедрения в практическую медицину методов, позволяющих оценить функциональное состояние гранулоцитарных клеток крови и подобрать иммуноактивные препараты.

В предложенных методических рекомендациях предлагается разработанный в НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН и ООО «МедБиоТех» современный и в то же время доступный в клинической практике для врачей любой специальности в любом лечебном учреждении способ индивидуального подбора иммуноактивных препаратов, показавший свою эффективность при коррекции нарушений функций иммунной системы.

ИММУНОАКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ

При лечении больных с вторичными иммунными нарушениями помимо исключения этиологических факторов, если они выявлены, необходимо проводить комплексную терапию и решать следующие задачи, а именно:

- Устранить патогенный агент.
- Провести иммуноактивную терапию, в том числе в особо тяжелых случаях необходимо рассматривать вопрос о клеточно-тканевой терапии.
- Применить средства, влияющие на метаболизм клетки и клеточное окружение, в том числе все необходимые виды дезинтоксикации.

Особенно важное значение принадлежит иммунотерапии. Иммунотерапия сложный лечебный процесс, направленный на восстановление нормального функционирования иммунной системы и достижение полноценной клинико-иммунологической ремиссии, вплоть до полного выздоровления. Иммунотропные препараты обладают различными видами воздействия. Выделяют следующие виды воздействия: заместительное лечение в том числе цитокинотерапия и клеточно-тканевая терапия, иммуностимулирующая и иммунодепрессивная терапия. Наиболее сложной представляется иммуностимулирующая терапия, т.к. с одной стороны существует огромное количество иммуноактивных препаратов, с другой стороны нет четких критериев применения таких препаратов.

Существует большое количество классификаций иммуноактивных препаратов. Наиболее применим патогенетический подход, предусматривающий действие различных иммуностимуляторов на основные звенья иммунной системы. Необходимость такой классификации диктуется запросами практики, поскольку клинико-иммунологическая разнородность иммунопатологических состояний определяет дифференцированный подход к терапии. Однако попытка разделения иммуностимуляторов по изби-

рательности действия осложняется отсутствием селективности действия существующих препаратов. Поэтому иммуностимулирующие препараты классифицировать лучше по способу производства (табл. 1).

Таблица 1

Классификация иммуностимулирующих препаратов

Группа	Препараты
Вакцины	Бактериальные - солкоТриховак, солкоУровак, бактериальные вакцины
	Вирусные вакцины
	Специфические аллергены
Препараты бактериального происхождения	Фрагменты пептидогликана клеточной стенки и РНК – рибомунил
	Липополисахариды бактерий – пирогенал, про-дигиозан
	Лизаты и антигенные экстракты бактерий - ИРС-19, имудон, бронхомунал, бронхо-Ваксом, уро-Ваксом
	Синтетические аналоги – ликолипид, ромуртид
Иммунорегуляторные пептиды	Тимические иммунорегуляторные пептиды и их синтетические аналоги - тактивин, тималин, вилозен, тимоген, задаксин, имунофан, гепон
	Костномозговые иммунорегуляторные пептиды - миелопид
	Пептиды различного происхождения - спленопид, спленин альфетин, профеталь
Индукторы синтеза интерферонов	Природные - панавир, кагоцел, рогасин, саврац
	Синтетические - амиксин, лавомакс, йодантипирин, арбидол, неовир, полудан
Иммунометаболические препараты	Препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты, - деринат, ферровир, полидан, нуклеинат натрия.
	Производные пурина и пиримидина - метилурацил, пентоксил, изопринозин
	Производные имидазола - левамизол, дибазол
	Производные полиэтиленперазина - полиоксидоний
	Производные аминофтальгидразита - галавит

Фармацевтическое действие этих групп препаратов представлено в таблице (табл. 2)

Таблица 2

Фармацевтическое действие иммуноактивных препаратов

Группа препаратов	Макрофагально-фагоцититарное звено	Регуляторное звено	Гуморально-эффекторное звено	Клеточно-эффекторное звено	Факторы неспецифической резистентности
Бактериальные вакцины	+		+		+
Вакцины вирусные				+	
Препараты бактериального происхождения	+		+		+
Тимические иммунорегуляторные пептиды		+		+	
Костномозговые иммунорегуляторные пептиды			+		+
Индукторы синтеза интерферонов			-	+	+
Иммунометаболические препараты	+			+	+

Вакцинация – это самое эффективное и экономически выгодное средство профилактики и лечения инфекционных болезней. Различают плановые профилактические прививки (вакцинация против дифтерии, столбняка и коклюша, полиомиелита, туберкулеза, кори, паротита (свинки) и краснухи, вирусного гепатита В). Профилактические прививки по эпидемическим показаниям (на энзоотичных территориях, прибывшие на эти территории лица и/или лица подверженные риску). В клинической практике специфическая активная иммунотерапия дает эффект при бруцеллезе,

туляремии, токсоплазмозе, трихомониазе, гонококковой инфекции, герпесе.

В острый период инфекционного заболевания вакцинация противопоказана, так как она способна увеличить иммунодепрессивный эффект, обусловленный инфекционным процессом, и способствовать неблагоприятному его течению. Лечение следует назначать в период ремиссии болезни с целью обеспечить формирование полноценного иммунитета способного предупредить развитие их рецидивов, или при затяжном и хроническом течении с незначительно выраженными клиническими проявлениями инфекционного процесса.

Одно из перспективнейших направлений активного воздействия на иммунную систему человека, особенно при хронических инфекциях, следует рассматривать производство аутовакцин.

Как вакцинацию можно рассматривать и специфическую иммунотерапию с аллергенами (СИТ). Методика проведения СИТ состоит во введении пациенту причинно-значимого аллергена, начиная с подпороговых доз, постепенно повышая его концентрацию. Но при проведении СИТ имеется определенный риск нежелательных побочных эффектов. Наиболее опасным осложнением которым является развитие анафилактических реакций. Поэтому СИТ может проводить только специально обученный врач.

Препараты бактериального происхождения (*рибомунил, тирогенал, продигиозан ИРС-19, имудон, бронхомунал, бронхо-Ваксом, уро-Ваксом ликоид, ромуртид*). Это разновидность бактериальных вакцин, обладающих неспецифическим действием в основном на макрофагально-фагоцитарное и гуморальное звено иммунитета. Действующее начало этих препаратов являются лизаты и антигенные экстракты бактерий в то числе фрагменты клеточной стенки бактерий (липополисахариды, рибосомально-протеогликановый комплекс и пр.). Их применение обосновано при нарушении гуморально-эффекторного звена иммунной системы.

Иммунорегуляторные пептиды. Препараты, представляющие собой комплекс полипептидных фракций, выделенных из определенных органов или являющиеся их синтетическими аналогами. Наибольшее применение нашли препараты тимуса и костного мозга. Тимические полипептиды (*тактивин, тималин, вилозен, тимоген, задаксин, иммунофан, гепон*) стимулируют клеточно-эффекторное и регуляторное звено иммунитета. Препараты костного мозга (*миелопид*) гуморальное и макрофагально-фагоцитарное звено.

Другие иммунорегуляторные пептиды (*спленопид, спленин альфетин, профеталь*) в основном действуют как иммунометаболические препараты.

Индукторы интерферонов (*амиксин, лавомакс, йодантипирин, циклоферон, арбидол полудан, неовир, амплиген, кагоцел, панавир, рогасин, саврац*). Эти препараты в основном индуцируют синтез всех классов эндогенных интерферона (α , β и γ) в разных пропорциях. Клинические испытания показали широкий диапазон их иммуностимулирующей и противовирусной активности. Применение показано при нарушениях клеточно-эффекторного звена иммунитета и при недостаточности синтеза интерферона. Целесообразно до начала проведения терапии провести определение интерферонов и оценить способность стимуляции того или иного препарата.

Иммунометаболические препараты. Группа препаратов без четкой направленности действия на различные звенья иммунной системы. Однако достаточно интенсивно стимулирующие клетки иммунной системы. Обычно способствуют ускорению процессов регенерации, активизирует деятельность костного мозга и лейкопоза, увеличивает количество Т-лимфоцитов. Стимулирует миграцию и кооперацию Т и В-лимфоцитов, фагоцитарную активность макрофагов и факторов неспецифической резистентности, процессы клеточного деления. К этой группе относятся препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты (*деринат, ферровир, полидан, нук-*

леинат натрия), производные пиримидина и пурина - *метилурацил, пентоксил, изопринозин*, производные имидазола - *левамизол, дибазол*, производные полиэтиленперазина – *полиоксидоний*, производные аминфталгидразита – *галавит*

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПОДБОР ИММУНОАКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

При применении иммуноактивных препаратов с одной стороны, нет четких критериев применения конкретных препаратов при тех или иных иммунных нарушениях, с другой стороны, большинство препаратов не обладают четкой тропностью действия. При этом необходимо помнить, что для каждого пациента лекарственные средства действуют индивидуально в зависимости от генетических особенностей пациента, характера течения заболевания и особенностью обменных процессов больного на момент приема препарата. Все это заставляет искать индивидуальные методы подбора иммуноактивных препаратов. Одно из таких направлений оценка действия лекарственных средств *in vitro*.

Известно, что люцигенин вступает в хемилюминесцентную реакцию только с супероксид-анионом, продукция которого осуществляется НАДФН-оксидазной системой [3,5]. Клетками крови, которые производят подобные высокоэнергетические молекулы, являются только нейтрофильные гранулоциты [5,7]. Нейтрофильные гранулоциты обладают высокой реактивностью, они способны быстро функционально перестраиваться в ответ на воздействие агентов различной природы. Кроме того, после активации нейтрофильные гранулоциты сами становятся мощными эффекторами каскадных реакций, определяя развитие воспаления и проявление цитотоксической активности данной клеточной популяции [7]. Помимо этого нейтрофильные гранулоциты несут на своей поверхности специфические рецепторы к различным веществам, что делает возможным оценивать влияние иммуноактивных препаратов на эти клетки в экспериментах *in vitro*.

Сущность метода состоит в том, что определяют спонтанную и модифицированную иммуноактивными препаратами люцигенин-зависимую хемилюминесценцию цельной крови. Определяют коэффициент иммуно-

активной модификации (КИМ), представляющий собой процент изменения площади под кривой модифицированной хемилюминесценции (Sмод.) к площади под кривой спонтанной хемилюминесценции (Sсп.):

Выбирают препарат, имеющий максимальную положительную величину КИМ. При величине КИМ равную и превышающую 25 % прогнозируют эффективную иммунотерапию данным препаратом.

Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

– Фотометр биохемилюминесцентный БЛМ-3607: общее количество кювет – 36, область спектральной чувствительности – 300-800 нм, диапазон рабочих температур измерительной камеры – 200-400 С.

– Регулируемые автоматические микропипетки со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости в диапазоне от 10 мкл до 10 мл.

– Флаконы стеклянные вместимостью 10-15 мл.

– Колбы вместимостью 100 мл – 2 шт.

– Вода дистиллированная.

– Перчатки резиновые или пластиковые.

– Препарат 1. Циклоферон – 30 мкл.

– Препарат 2. Тимоген – 5 мкл.

– Препарат 3. Реаферон – 5 мкл.

– Препарат 4. Галавит – 5 мг.

– Препарат 5. Полиоксидоний – 6 мг.

– Реагент 1. Люцигенин – 550 мг.

– Реагент 2. Солевая смесь для приготовления 100 мл раствора Хенкса (60,0 мг KH_2PO_4 , 90,0 мг $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 350,0 г NaHCO_3 , 8,0 г NaCl , 0,4 г KCl , 0,14 г CaCl_2 , 100 мг $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 100 мг $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 г D-глюкозы).

- Реагент 3. 0,45 г NaCl для приготовления 50 мл физиологического раствора.
- Наконечники для пипеток – 50 штук.
- Кюветы для биохемилюминесцентного анализатора – 21 шт.

Анализируемые образцы

В качестве исследуемых образцов использовать гепаринизированную венозную кровь. Для анализа требуется 150 мкл крови.

Не допускается заморозка образцов крови.

Не допускается хранение образцов крови более 4 часов.

Подготовка реагентов для анализа

1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты набора при температуре от 18 до 25° С не менее 30 мин.
2. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.
3. После первого вскрытия, разведения антибиотиков и реагентов и отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть, поместить в холодильник и хранить при 2-8° С в течение 5 дней, но в пределах срока годности набора.
4. Приготовление физиологического раствора. В колбу высыпать содержимое реагента 3 и добавить 50 мл дистиллированной воды. Хорошо перемешать. Хранить при 2-8° С не более 10 дней.
5. Раствор Хенкса готовят доведением содержимого во флаконе Реагент 2 в мерной колбе до 100 мл дистиллированной водой. Раствор тщательно перемешивают и хранят при 2-8° С в течение 10 дней.

6. Приготовление люцигенина. Во флакон (реагент 1) добавить 11 мл раствора Хенкса. Хорошо перемешать до полного растворения. Хранить при 2-8⁰ С не более 10 дней.
7. Приготовление препарата 1. Добавить во флакон 10 мл физиологического раствора. Хорошо перемешать. Хранить при 2-8⁰ С не более 5 дней.
8. Приготовление препарата 2. Добавить во флакон 10 мл физиологического раствора. Хорошо перемешать. Хранить при 2-8⁰ С не более 5 дней.
9. Приготовление препарата 3. Добавить во флакон 10 мл физиологического раствора. Хорошо перемешать. Хранить при 2-8⁰ С не более 5 дней.
10. Приготовление препарата 4. Добавить во флакон 1,0 мл физиологического раствора (флакон А). Хорошо перемешать до полного растворения. Перенести 100 мкл раствора во 2 флакон и добавить 900 мкл физиологического раствора (флакон Б). Для анализа использовать содержимое флакона Б. Хранить при 2-8⁰ С не более 5 дней.
11. Приготовление препарата 5. Добавить во флакон 1,0 мл физиологического раствора (флакон А). Хорошо перемешать до полного растворения. Перенести 100 мкл раствора во 2 флакон и добавить 900 мкл физиологического раствора (флакон Б). Для анализа использовать содержимое флакона Б. Хранить при 2-8⁰ С не более 5 дней.

Процедура проведения хемилюминесцентного анализа и регистрация результатов

1. Хемилюминесцентный анализ пробы выполняют с помощью фотометра биохемилюминесцентного БЛМ-3607 в течение 90 мин.

2. По 25 мкл цельной крови пациента, стабилизированной гепарином, добавляют в контрольную и опытные пробирки. Последовательность пробирок и объем реагентов и препаратов представлен в табл. 1.

Таблица 1

Последовательность пробирок и объем реагентов и препаратов

Кюветы	Реагент 1 Люцигенин	Реагент 2 р-р Хэнкса	Препарат, по 10 мкл
1 кювета	50 мл	425 мкл	
2 кювета	50 мл	425 мкл	Циклоферон
3 кювета	50 мл	425 мкл	Тимоген
4 кювета	50 мл	425 мкл	Реаферон
5 кювета	50 мл	425 мкл	Галавит
6 кювета	50 мл	425 мкл	Полиоксидоний

3. В контрольную пробирку добавляют 425 мкл раствора Хэнкса. В опытные пробирки добавляют 375 мкл раствора Хэнкса и по 10 мкл препаратов в концентрации, соответствующей содержанию препарата в крови при парентеральном введении.
4. Запуск хемилюминесцентной реакции осуществляют 50 мкл люцигенина в концентрации 50 мкг/мл.
5. Регистрацию результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществляют через компьютер. Получают кривые хемилюминесценции.
6. Определяют площади под кривой хемилюминесценции в контрольной пробе (Ссп.) и в каждой пробе с исследуемыми препаратами (Смод.)
7. По формуле рассчитывают величину коэффициента иммуноактивной модификации (КИМ) для каждого препарата:

$$\text{КИМ} = \frac{S_{\text{мод.}} - S_{\text{сп.}}}{S_{\text{сп.}}} \times 100\%$$

где:

Смод. - площадь под кривой хемилюминесценции крови с иммуноактивным препаратом (усл.ед.);

Scp. - площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции крови (усл.ед.).

8. Для проведения иммунотерапии выбирают препарат с максимальной величиной КИМ. При величине КИМ равной или выше 25% прогнозируют эффективную иммунотерапию, а при величине КИМ ниже 25% неэффективную иммунотерапию.

Предложенный способ апробирован на 130 пациентах, обратившихся в клиническое отделение лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН с хроническими бактериальными (рецидивирующий фурункулез, хронический гайморит, вялотекущий рецидивирующий аднексит), вирусными (хронический вирусный гепатит В и С, рецидивирующий герпес) инфекциями. Осуществлялся подбор следующих препаратов: тималин, ронколейкин, галавит, глутоксим, деринат, милдронат, реальдерон, миелопид, пирогенал. Всем пациентам перед назначением терапии проводили анализ по определению КИМ и прогнозу эффективности терапии. Все обследованные были разделены на 2 группы: 1-ая группа – пациенты, получавшие иммуноактивный препарат, который был определен по максимальной величине КИМ (72 человек); 2-ая группа – пациенты, которым назначался иммуноактивный препарат традиционным способом (индивидуальный подбор не проводился). Все пациенты в процессе лечения регулярно контролировались. Эффективность проводимого лечения оценивалась клинически. В первой группе эффективность лечения составила 100% у всех пациентов достигнута стойкая ремиссия в течении 6 мес. (срок наблюдения за пациентами). Во второй группе в 23,5% случаях определялось обострение заболеваний.

Пример 1

Больная М. 56 лет (амбулаторная карта № 67). Клинический диагноз: Рецидивирующий фурункулез. В течение трех лет фурункулы на руках туловище. Неоднократно лечилась (антибактериальная терапия, местное лечение). При проведении иммунологических исследований выявлен Т-лимфоцитоз без нарушения распределения между субпопуляциями Т-лимфоцитов, снижение фагоцитарной активности клеток. Проведен хемилюминесцентный анализ функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов и клеточной чувствительности (ИЧ) к иммуноактивным препаратам *in vitro* (тималин, ронколейкин, галавит, деринат, реальдерон, миелопид, пирогенал) до начала лечения. Наибольшая активность выявлена к галавиту и деринату. Проведено лечение галавитом в рекомендованных общетерапевтических дозах. После проведенного лечения состояния больной улучшилось. Фурункулы отсутствуют. Дальнейшее наблюдение в динамике в течении 6 мес. рецидивы не отмечались.

Пример 2

Больной У. 22 лет (амбулаторная карта № 66). Клинический диагноз: Вирусный гепатит С, генотип 1, хроническое течение. При заборе крови на донорском пункте выявлен хронический гепатит. В течении года лечился без существенного эффекта. Были жалобы на слабость, недомогание. При биохимических исследованиях АЛТ 112-130-126 Ед/л, АСТ 58-65-60 Ед/л. При проведении иммунологических исследований выявлен Т-лимфоцитопения за счет популяции Т-эффекторов, снижение фагоцитарной активности клеток. Проведен хемилюминесцентный анализ функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов и клеточной чувствительности (ИЧ) к различным иммуноактивным препаратам *in vitro* (тималин, ронколейкин, галавит, деринат, реальдерон, миелопид, пирогенал) до начала лечения. Наибольшая активность выявлена к ронколейкину и галавиту. Проведено лечение ронколейкином в общетерапевтических дозах.

После проведенного лечения состояния больной улучшилось. Стойкая клинико-лабораторная ремиссия в течении 6 мес. Жалоб нет. Дальнейшее наблюдение в динамике в течении 6 мес. рецидивы не отмечались АЛТ 35-32 Ед/л АСТ 28-15 Ед/л.

Пример 3

Больной М. 60 лет (амбулаторная карта № 66). Клинический диагноз: Хронический двухсторонний гнойный гайморит. Больная жаловалась на головные боли, усиливающиеся при наклоне вперед, заложенность носа, гнойные выделения из носа, снижение обоняния, субфебрилитет. Из анамнеза известно, что пациентка страдает хроническим гайморитом более 7 лет. На протяжении этого времени периодически проводились курсы консервативного лечения (антибиотики, симптоматическая терапия). Последнее обострение началось 10 дней назад. По месту жительства проводилось лечение: антибиотики, санационные мероприятия, симптоматические средства.

При проведении иммунологических исследований выявлена лейкопения, Т-лимфоцитопения без нарушения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов. С учетом клинико-иммунологических данных проведено лечение тактивинном в общетерапевтических дозах. После проведенного лечения состояния больной улучшилось у больной прошли головные боли, уменьшилось чувство тяжести в области лица, нормализовалась температура тела. Гнойных выделений нет. Больная выписана. Однако через 4 месяца вновь обострение. Головные боли, гнойное отделяемое из носа, температура до 37,5.

Литература

1. Афонина Г.Б., Майданник В.Г. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа//Врач.дело.-1990.-N 9.-С.73-78.
2. Балувев М.М., Саидов М.З., Зурхаев Р.З. Сравнительная оценка хемилюминесцентного ответа и секреции миелопероксидазы нейтрофилами при их стимуляции сывороткой крови больных острой пневмонией//Иммунология.-1993.-N 1.-С.54-56.
3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Практические замечания по регистрации хемилюминесценции фагоцитирующих клеток//Бюлл.СО АМН СССР.-1990.-N 2.-С.72-77.
4. Ляшенко В.А. Макрофаги в инфекционном процессе//Иммунология.-1995.-N 4.-С.48-52.
5. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.- Новосибирск: Наука, 1989.-344 с.
6. Потапова Г.И., Храмова С.Н. Роль аденозиндезаминазы и метаболизма пуринов и пиримидинов в нарушении функции иммунных клеток при злокачественном росте//Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер.Онкология.-1993.-Т.23.-С.85-168.
7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка основных этапов фагоцитарного процесса: современные подходы и перспективы развития исследований//Патол.физиол. и эксперим.терапия.-1995.-N 3.-С.3-10.
8. Bochev B.G., Margisso M.J., Bochev P.G. et al. Dependence of whole blood luminol chemiluminescence on PMNL and RBC count//J.Biochem.Biophys.Methods.-1993.-Vol.27,N 4.-P.301-311.
9. Hampton M.B., Vissers M.C., Winterbourn C.C. A simple assay for measuring the rates of phagocytosis and bacterial killing by neutrophils//J.Leukocyt.Biol.-1994.-Vol.55,N 2.-P.147-153.

10. Matteo M.R., Smith R.S. Neutrophil-dependent tissue damage//Agents and Actions.-1988.-Vol.25,N 1/2.-P.60-62.
11. Pauksens K., Sjolin J., Venge P. Chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes and whole blood during acute bacterial infections//Scand.J.Infec.Dis.-1989.-Vol.21.-P.277-284.