

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КСЕНОСЕЛЕЗЕНКИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

К. м. н. В.В. БЫЗОВ, профессор Б.П. САНДОМИРСКИЙ

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков,
Городская клиническая больница № 13, Харьков*

Рассмотрена проблема применения ксеноселезенки в клинике. Показана целесообразность применения криобиологических технологий для получения биологически активных экстрактов из фрагментов ксеноселезенки. Разработан такой экстракт, определены его биофармацевтические свойства и клиническая эффективность при эндобронхиальном введении больным с абсцессами легких.

Селезенка является частью мощной естественной сорбирующей системы организма, играющей важную роль в захвате и элиминации ксенобиотиков, в том числе и иммунных комплексов [1]. Одно из наиболее ценных свойств этого органа — его способность продуцировать иммуноглобулины, опсоины, другие биологически активные вещества, которые имеют большое значение для обеспечения иммунного гомеостаза, стимулируя в первую очередь фагоцитарную и метаболическую активность лейкоцитов и макрофагов [2]. Наличие в селезенке 25% всей лимфоидной ткани и 30% всего ретикулоэндотелия организма, большого количества Т- и В-лимфоцитов, макрофагов определяет ее роль как высокоиммунокомпетентного органа.

Лечение, связанное с применением ксеноселезенки, известно с 1984 г., когда было применено экстракорпоральное подключение органа от свиньи больным с сепсисом. В последующем область клинического применения данного метода значительно расширилась, и в настоящее время он используется для целей детоксикации организма при гнойно-септических заболеваниях [3], при лечении бронхальной астмы [4], системной красной волчанки [5], псориаза [6], ожоговой болезни [7], шистосомоза [8], острого панкреатита [9], цирроза печени и обтурационных желтух [10], гнойно-деструктивных заболеваний легких и плевры [11; 12], рака пищевода [13].

Методика экстракорпорального подключения ксеноселезенки достаточно стандартна и заключается в том, что селезенку забирают непосредственно после забоя животного с соблюдением правил асептики. Затем производят катетеризацию ее артерии и вены и перфузию органа физиологическим раствором с добавлением гепарина, после чего помещают в термос со стерильным, охлажденным до +4°C физиологическим раствором и доставляют к месту применения. Экстракорпоральное подключение селезенки производят с помощью веновенозного шунта, перфузию осуществляют двумя роликовыми насосами. Один из них эксфузирует кровь из подключичной вены больного и нагнетает ее в артериальный катетер селезенки, второй производит эксфузию крови из венозного катетера селезенки и возвращает ее в центральную вену больного. Длительность перфузии обычно составляет 40–60 мин; объем — 40–60% массы циркулирующей крови.

Использование в экстракорпоральном контуре ксенооргана выявило ряд ограничений метода, связанных с отсутствием возможности длительного хранения биообъекта, предварительной заготовки в нужном количестве и быстрой доставки материала в лечебное учреждение; кроме того, возможна значительная кровопотеря за счет депонирования крови в результате нередко возникающих состояний «блока оттока» в перфузируемой селезенке. В связи с этим была изучена возможность адекватной замены нативного ксенооргана срезами и взвесью интактных клеток [14], фрагментами селезенки, в том числе криоконсервированными, через которые велась гемоперфузия [15]. Подобные модификации позволили избежать указанных выше осложнений, а использование криоконсервированных фрагментов сделало возможным создание банка данного биологического материала с целью его доступности и использования у больных в необходимый клинический момент.

Говоря о селезеночных экстрактах, следует отметить, что еще в 1945 г. с помощью особых методов экстракции из селезенки крупного рогатого скота был выделен биологически активный препарат, получивший название спленин. В настоящее время накоплен обширный экспериментальный и клинический опыт по его применению. Спленин оказывает детоксикационное, противовоспалительное, мембраностимулирующее и иммуномодулирующее действие. Основными биологически активными веществами, входящими в состав спленина, являются липиды, липопротеиды, нуклеиновые кислоты, свободные аминокислоты и в меньшей степени — пептиды. За рубежом создан и нашел широкое клиническое применение препарат под названием Solcosplen, полученный на основе водного экстракта селезенки. Его основными действующими веществами являются низкомолекулярные пептиды. Следует отметить, что приготовление этих препаратов не предусматривает использования жизнеспособных клеток селезенки.

С позиций клеточной терапии интересны исследования, в которых получен очищенный селезеночный экстракт и изучены в эксперименте возможности его применения в качестве средства для лечения лучевой болезни [16]. Был получен также экстракт из селезенки северного оленя и исследовано его влияние на выживаемость мышей при низких температурах [7]. Интересно сообщение о получении

низкомолекулярного (молекулярная масса менее 1000 Да) небелкового иммуностропного фактора селезенки с рабочим названием спленозид, который представляет собой комплекс неидентифицированных нуклеозидов [18]. Авторами было показано, что даже одноразовое введение крысам этого препарата стимулирует цитолитическую активность спленцитов относительно клеток-мишеней, а введение спленозида морским свинкам вызывает снижение активности комплемента в сыворотке крови этих животных. Имеются также данные о влиянии экстракта, полученного из селезенки крыс, на мочевыделительную систему, свидетельствующие о том, что экстракт вызывает ускорение клубочковой фильтрации и как следствие — увеличение диуреза [19].

Лиофилизированные пептиды свиной селезенки (препарат спленонид) вводили внутривенно больным в критическом состоянии, при этом был получен детоксикационный и иммуномодулирующий эффект [20].

Ряд работ посвящен способу получения и клиническому применению селезеночного перфузата. Метод основан на экспериментальных и клинических исследованиях, показывающих, что из ксеноселезенки поступают биологически активные вещества, активирующие фагоцитоз и, таким образом, оказывающие иммуномодулирующее действие. Однако описываемый способ получения перфузата трудоемок и сложен [12]. Перфузат ксеноселезенки вводили пациентам тотчас после его заготовки или после одних суток хранения в холодильнике по правилам заготовки и хранения донорской крови. Его внутривенную инфузию проводили больным с гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры [12]. Наиболее ярким проявлением лечебного эффекта перфузата было снижение температуры тела до субфебрильной в первые сутки после инфузии. Снижение эндотоксикоза заключалось в уменьшении тахикардии и тахипноэ, кроме того, резко уменьшалась увеличенная печень, нормализовались размеры селезенки и функция кишечника, повышался уровень сывороточных альбуминов. Повышение процентного содержания лимфоцитов в периферической крови с одновременным повышением функциональной активности Т-лимфоцитов и моноцитов-макрофагов прямо свидетельствовало об иммуномодулирующих свойствах перфузата [12].

Дальнейшая разработка селезеночных перфузатов позволила обнаружить в них активность интерлейкина-2, интерлейкина-3, интерферона-гамма, фактора некроза опухоли-альфа, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, что явилось патогенетическим обоснованием применения так называемого ксеногенного комплекса цитокинов (ККЦ) из селезенки свиньи в лечебных программах интенсивной системной и экстракорпоральной иммунотерапии (ЭИТ) тяжелого сепсиса в хирургической и акушерской практике. Системное введение ККЦ и проведение ЭИТ у реанимационных больных с хирургическим и акушерским сепсисом сопровождалось преодолением картины угнетения иммунитета [21].

Использовался селезеночный перфузат и при лечении лимфостаза нижних конечностей [22]. В литературе имеются также сведения о местном применении фрагментов ксеноселезенки [11] и селезеночного перфузата в качестве заменителя антисептика при внутриполостной санации эмпиемы плевры. Положительный эффект при этом достигался в 1,5 раза быстрее, чем при использовании других антисептических средств [23].

Однако помимо дороговизны и трудоемкости изготовления перфузата ксеноселезенки, необходимости его применения сразу или в ближайшие 24 ч после приготовления оказалось, что внутривенное введение перфузата имеет нежелательный эффект — непереносимость препарата в 3% наблюдений, тогда как при местном применении побочных эффектов не наблюдалось. Этот факт определил необходимость дальнейшего изучения возможностей местного применения селезеночного перфузата.

Все сказанное позволяет сделать вывод, что наряду с применением нативных органов или их фрагментов перспективным является получение и использование тканевых экстрактов ксеноселезенки. Но получение и применение в клинической практике иммунобиологических тканевых ксенопрепаратов связано с большими организационными сложностями и материальными затратами, обусловленными отсутствием в необходимом клиническом моменте достаточного количества биологического материала, риском получения органов и тканей от больного животного, а также с вероятностью инфицирования этих объектов на этапах получения конечной продукции.

Одним из способов решения этих проблем может быть применение криобиологических технологий. Широко применяемый в настоящее время этап криоконсервирования клеток и тканей после заготовки и их низкотемпературное хранение позволяют производить исследование указанных объектов на стерильность. Криоконсервирование применяется также для накопления исходных органов и тканей до количеств, необходимых для последующей технологической переработки. Кроме того, криобиологические технологии позволяют получать биологически активный материал, имеющий именно ту степень деструктивных изменений, которая необходима и достаточна для максимального выхода нужных биологически активных веществ из ткани при экстрагировании. Таким образом, применение криобиологических технологий дает возможность получать клеточные и тканевые препараты, в том числе и экстракты, с более выраженными биологически активными свойствами по сравнению с препаратами, приготовленными из нативного исходного материала [24; 25].

Следует отметить, что имеются лишь единичные работы, посвященные определению основных биологически активных веществ, входящих в состав селезеночных препаратов [20; 21]. При этом технология приготовления большинства экстрактов предусматривает значительную степень диспергирования или гомогенизации ткани, что предполагает высокое

содержание в получаемых экстрактах белков различной молекулярной массы и обуславливает при их введении в организм большое число аллергических реакций. Логичным являлось получение гипоаллергичного экстракта с максимальным содержанием низкомолекулярных соединений: аминокислот, нуклеотидов, низкомолекулярных пептидов и т.д.

В Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины получен водный экстракт из криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки (ЭКФКС) [26]. Методом высокоэффективной эксклюзионной гельпроникающей хроматографии было изучено молекулярно-массовое распределение фракций экстракта и установлено, что основными компонентами препарата являются аминокислоты и вещества пептидной природы с различной молекулярной массой, которые эффективно связываются с мембранами модельных и интактных клеток по конкурентному механизму, что является необходимым условием для проявления их биологической активности [27]. Эндобронхиальное введение ЭКФКС

в комплексной терапии больных с абсцессами легких приводило к восстановлению показателей неспецифического и специфического иммунитета, в первую очередь местных механизмов бронхолегочной защиты, путем активизации альвеолярных макрофагов, сегментоядерных нейтрофилов и свободных нейтрофилов бронхоальвеолярного секрета, что обеспечивало восстановление функциональной активности фагоцитирующих клеток, увеличение секреции лизоцима, а также повышение уровня секреторного иммуноглобулина А и альфа-интерферонов [28]. Технология приготовления ЭКФКС, его эффективность при местном применении в гнойно-воспалительном очаге и отсутствие при этом каких-либо побочных явлений делают препарат перспективным для использования и в других областях клинической медицины.

Как видно из приведенных выше данных, клиническое применение ксеноселезенки, ее фрагментов и водно-солевых экстрактов является весьма целесообразным и перспективным в комплексном лечении целого ряда патологических состояний.

Литература

1. На захист ксеноспленоперфузії / В.П. Шано, Т.В. Джоджуа, О.М. Нестеренко, Т.І. Шевченко // Трансплантол.— 2000.— Т. 1, № 1.— С. 175–177.
2. Береснев А.В., Велигоцкий А.Н., Сипливый В.А. Применение биосорбции у больных с перитонитом // Кліні. хірургія.— 1996.— № 2–3.— С. 9–10.
3. Применение ксеноселезенки в лечении гнойно-септических осложнений / В.И. Зубков, В.В. Силантьев, В.А. Деев и др. // Там же.— 2000.— № 12.— С. 43–44.
4. Спленосорбция как метод клинико-иммунологической реабилитации больных бронхиальной астмой / Л.С. Когосова, Ю.Я. Ткаченко, Н.И. Гуменюк и др. // Укр. пульмонолог. журн.— 1998.— № 2.— С. 42–44.
5. Спленоперфузия в комплексном лечении больных системной красной волчанкой / А.Б. Цыпин, В.А. Насонова, Л.А. Ведерникова и др. // Терап. арх.— 1993.— Т. 65, № 5.— С. 61–65.
6. Иммунологическая оценка экстракорпоральной гемоперфузии селезенки свиньи при лечении псориаза / В.Н. Король, В.Г. Коляденко, П.Г. Жминько и др. // Вестн. дерматол. и венерол.— 1996.— № 4.— С. 8–12.
7. Биогемосорбция на ксеноселезенке как метод детоксикации при ожоговой болезни / Е.Е. Яругский, Ф.Ю. Гариб, А.А. Саидов и др. // Вестн. хирургии.— 1994.— Т. 152, № 1–2.— С. 108–112.
8. Autotransplant of spleen tissue in children with schistosomiasis: evaluation of splenic function after splenosis / С.Т. Brandt, D.Т. Maciel, O.А. Caneca et al. // Mem. Inst. Oswaldo Cruz.— 2001.— Vol. 96.— P. 117–122.
9. Экстракорпоральная детоксикация ксеноселезенкой при остром панкреатите / Л.Д. Тараненко, В.И. Бондарев, П.Ф. Головня и др. // Вестн. хирургии.— 1990.— Т. 144, № 2.— С. 35–37.
10. Перспективы использования экстракорпорального подключения ксеноселезенки в лечении больных циррозом печени и обтурационной желтухой, осложненных печеночной недостаточностью / А.В. Вахидов, Ш.З. Касымов, И.П. Кириченко, и др. // Там же.— 1993.— Т.150, № 1–2.— С. 90–92.
11. Бызов В.В. Применение криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки в лечении больных с гнойными процессами легких и плевры // Пробл. криобиол.— 2000.— № 1.— С. 81–85.
12. Первый опыт применения перфузата ксеноселезенки в лечении больных с обширными гнойно-деструктивными заболеваниями легких и плевры / С.Д. Никонов, А.Б. Цыпин, А.А. Макаров и др. // Груд. и серд.-сосуд. хирургия.— 1991.— № 2.— С. 42–45.
13. Марийко В.А., Нечай В.С., Титов В.Н. Эффективность использования ксеноспленоперфузии при хирургическом лечении рака пищевода // Анналы хирургии.— 1997.— № 3.— С. 31–35.
14. Неймарк М.И., Рогачевский П.А. Модифицированная методика перфузии крови через ксеноселезенку у больных с перитонитом // Анестезиол. и реаниматол.— 1993.— № 1.— С. 23–26.
15. Гемоперфузия через криоконсервированные фрагменты ткани ксеноселезенки при гнойно-септических состояниях в урологии / Н.Л. Коблов, В.С. Сускова, Т.С. Перепанова и др. // Урол. и нефрол.— 1991.— № 4.— С. 25–30.
16. Олонцева О.И. Очищенный селезеночный экстракт — средство лечения лучевой болезни в эксперименте // Лучевые повреждения организма и пути их коррекции.— Томск, 1991.— С. 28–31.
17. Дрозд Ю.В., Иванов М.П., Евстратов А.В. Влияние препарата, выделенного из селезенки северного оленя, на выживаемость мышей при низких температурах // Авиакосм. и экол. мед.— 1992.— Т.25, № 5–6.— С. 92–93.
18. Реакції імунної системи під впливом непептидного чинника селезінки / М.Д. Тронько, Л.М. Бикова, М.Г. Бойко та ін. // Фізіол. журн.— 2000.— Т. 46, № 4.— С. 3–7.
19. Kaufman S., Deng Y. Effect of splenic extract on plasma volume and renal function in the rat // Life Sci.— 1999.— Vol. 65, № 24.— P. 2653–2662.

20. Регуляторная поддержка важнейших систем организма, декомпенсирующихся при критических состояниях, с помощью пептидов донорских органов / Н.А. Онищенко, Д.В. Шумаков, М.Г. Лукава и др. // П Рос. конгресс по патофизиол.: Тез. докл.— М., 2000.— С. 324.
21. Эффективность ксеногенного комплекса цитокинов из селезенки свиньи в системной и экстракорпоральной иммунотерапии тяжелого сепсиса и иммунного паралича в хирургии и акушерстве / С.Д. Никонов, А.И. Бурухина, Е.Р. Черных и др. // Там же.— С. 324.
22. Применение перфузата ксеноселезенки в лечении лимфодемы нижних конечностей / М.С. Любарский, А.И. Шевелпа, Л.В. Титова и др. // Груд. и серд.-сосуд. хирургия.— 1997.— № 2.— С. 139.
23. *Опанасенко Н.С.* Использование методов экстракорпоральной детоксикации и афферентного воздействия на организм при лечении гнойно-воспалительных заболеваний легких и плевры // Кліні. хірургія.— 1997.— № 3–4.— С. 88–92.
24. *Грищенко В.И., Сандомирский Б.П.* Концепция клеточной терапии // Пробл. криобиол.— 2000.— № 1.— С. 3–6.
25. *Сандомирский Б.П., Гальченко С.Е., Гальченко Е.С.* Криобиологические подходы к созданию препаратов из ксеногенного сырья // Лекарства — человеку: Матер. науч.-практ. конф.— Харьков, 2001.— Т. 14, № 1.— С. 56–57.
26. Заготівля, кріоконсервування та клінічне застосування фрагментів селезінки свиней та екстракту з них: Метод. рек. / Сост.: Б.П. Сандомирський, С.Е. Гальченко, В.В. Бизов та ін.— Харків, 2001.— 9 с.
27. Некоторые биофармацевтические свойства экстракта криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки / Б.П. Сандомирский, В.В. Бызов, Л.В. Иванов, С.Е. Гальченко // Фармакол.— 2002.— № 2.— С. 78–82.
28. Влияние эндобронхиального введения экстракта криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки на некоторые факторы местного иммунитета в комплексной терапии больных с абсцессами легких / В.В. Бызов, И.П. Высеканцев, С.Е. Гальченко, Б.П. Сандомирский // Пробл. криобиол.— 2001.— № 4.— С. 65–70.

Поступила 30.01.2004

POSSIBILITY OF XENOSPLEEN USE IN CLINICAL PRACTICE

V.V. Byzov, B.P. Sandomirsky

S u m m a r y

The problem of xenospleen use in clinical practice is discussed. Reasonability of application of cryobiological technologies to obtain biologically active extracts from xenospleen fragments is shown. The extract has been developed, its biopharmaceutical properties and clinical efficacy at endobronchial administration in patients with lung abscess is shown.