

Изобретение относится к медицине, а именно к способам лечения заболевания кишечника, и может быть использовано для лечения неспецифического язвенного колита (НЯК).

Отсутствие точных знаний об этиологии и патогенезе НЯК затрудняет лечение больных, страдающих этим заболеванием. В настоящее время применяют как консервативные, так и хирургические методы. В последние годы, исходя из наиболее распространенных теорий происхождения НЯК - иммунной и инфекционной, при консервативном лечении применяют на фоне диеты в различных комбинациях внутрь, внутримышечно, внутривенно и в микроклизмах противовоспалительные средства, иммуносупрессоры или иммуномодуляторы, антибактериальные средства [1, 2, 3].

Аналогами заявляемого способа лечения являются следующие.

Известен способ лечения неспецифического язвенного колита с тотальным поражением толстой кишки салицилатсульфаниламидами и кортикостероидами (КС) по схеме с постепенным уменьшением дозы кортикостероидов до полной их отмены, при этом указанные препараты в среднесуточных дозах вводят до наступления клинического эффекта, затем дополнительно вводят продектин при одновременном снижении дозы кортикостероидов до их полной отмены после чего вдвое снижают дозы салицилатсульфаниламидов [4].

Недостатком этого способа является недостаточная эффективность, длительные сроки лечения, малая продолжительность ремиссии, частые рецидивы заболевания. Исследованиями Б. В. Киркина с соавт. [5] установлено, что применение даже больших доз КС (1,5-2,0 мг/кг), которое дает терапевтический эффект, не оказывает иммуносупрессивного действия. Позже были разработаны технологии лечения с применением иммуностимуляторов.

Известен способ лечения неспецифического язвенного колита путем применения противовоспалительных, гормональных, витаминных препаратов и дополнительного введения иммуноглобулина в дозе 5-10 мл через день 3-5 раз [6]. Авторы этого изобретения и другие ученые, применявшие для лечения больных НЯК иммуноглобулин [7], пришли к выводу, что включение иммуноглобулина в качестве дополнительного средства у многих больных НЯК приводит к ряду положительных сдвигов в иммунной системе, к снижению повышенной фагоцитарной активности моноцитов и активности их лизосомального аппарата, некоторому снижению количества моно- и полинуклеаторов, что повышает активность клеток в ответной реакции на индуцирующий стимул, увеличивает количество теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов. Однако полной коррекции иммунного статуса при этом не наблюдается, не во всех случаях применения иммуноглобулина наблюдается терапевтический эффект. Кроме того, возможны побочные действия в виде анафилактических и противовоспалительных реакций в связи с неоднородной специфичностью, антигенным составом и трудностью дозирования.

Известен способ лечения НЯК [8], при котором на фоне диетотерапии и средств, корректирующих обменные процессы, применяют энтеродез 3,0-5,0 г 3 раза в день в первые 3-5 дней, спленин 1,0-2,0 мл внутримышечного в течение 10-15 дней, а затем сульфасалазин 1,5-2,0 г в сутки до клинического улучшения. Этот способ принят за прототип.

Недостатком прототипа является то, что он у части больных не обеспечивает необходимой терапевтической эффективности, не сокращает сроки лечения, что может быть обусловлено недостаточной иммуномодулирующей и особенно регулирующей активностью. К тому же, как чужеродный биологический агент, может вызывать побочные явления, например, аллергические реакции.

В основу изобретения поставлена задача разработать такой способ лечения НЯК, в котором новое выполнение действий и применяемых средств позволило бы устранить нарушения иммунного статуса больного, сократить сроки лечения, предупредить побочные действия, и за счет этого повысить эффективность лечения.

Поставленная задача, согласно предмету изобретения, осуществляется использованием диеты, противовоспалительных, антибактериальных и иммунокорректирующих средств в виде иммунокорректора аутоцитокинов дважды с интервалом 6-7 дней в дозе 2,5-3,0 мл подкожно в 5-7 точек предплечья или живота, с дополнительным применением карбюлозы по 100 г 3 раза в день в течение 7-14 дней, бактериальных препаратов в терапевтических дозах.

При сопоставительном анализе признаков известного способа (прототипа) и заявляемого способа лечения установлено, что они имеют общие признаки. К их числу относятся использование диеты противовоспалительных, антибактериальных средств и средств, корректирующих иммунный статус больного.

Заявляемый способ лечения НЯК отличается от прототипа рядом признаков. К числу отличительных признаков относятся:

- применение в качестве иммунокорректора аутоцитокинов (АЦК) дважды с интервалом 6-7 дней в дозе 2,5-3,0 мл, вводимых подкожно в 5-7 точек предплечья или живота (0,3-0,4 мл в каждую точку);
- применение карбюлозы по 100 г 3 раза в день в течение 7-14 дней;
- применение биоспорина (спорообразующего бакпрепарата) в терапевтических дозах.

Отличительные признаки являются необходимыми и в сочетании с известными признаками достаточными для решения задачи изобретения.

Отличительные признаки отсутствуют в известной технике, что позволяет считать заявляемый способ отвечающим требованию патентоспособности "Новизна". Отличительные признаки прямо не вытекают из известных науке и технике решений, следовательно, способ отвечает требованию патентоспособности "Изобретательский уровень". Заявляемый способ может быть выполнен в условиях лечебных учреждений, следовательно, он применим в здравоохранении.

Заявляемый способ лечения неспецифического язвенного колита осуществляют следующим образом.

После общеклинического обследования и выполнения специальных исследований (колоноскопия, исследование иммунного статуса, определение видового и количественного состава микрофлоры фекалий) устанавливают диагноз заболевания, тяжесть его течения. После установления диагноза назначают лечение, включающее диету №4, карбюлозу перорально по 100г 3 раза в день на протяжении 7-14 дней в начале

лечения, антибактериальные препараты, например, метрогил, эритромицин в терапевтических дозах на протяжении 10-14 дней, противовоспалительные, например, салофаль или сульфасалазин по 0,5-1,0 г 4 раза в день на протяжении 1,0-1,5 месяцев, биоспорин по 2 дозы 2-3 раза в день до нормализации микробиоценоза толстой кишки. Наряду с указанным лечением больному вводят подкожно в 5-7 точек предплечья или живота 2,5-3,0 мл (0,3-0,4 мл в каждую точку) аутоцитокинов, полученных стимуляцией BCG. Через 6-7 дней также подкожно в 5-7 точек предплечья или живота вводят 2,5-3,0 мл аутоцитокинов, стимулированных аутовакциной из кишечной палочки, выделенной из фекалий больного.

Аутоцитокины (АЦК) готовят следующим образом.

В день поступления больного в клинику или на следующий день у него берут 10,0 мл венозной крови и делают посев кала на микрофлору. Из взятой крови выделяют мононуклеары и культивируют их *in vitro* при температуре 37°C в течение 3 ч в присутствии митогена ФГА (10 мкг/мл среды) и вакцины BCG (10 мкг/мл среды). Центрифугированием отделяют мононуклеарные клетки, 2 раза отмывают их средой 199, к осадку добавляют физиологический раствор и продолжают культивирование 18-20 ч. По истечении этого времени центрифугируют, надосажд, содержащий аутоцитокины, стандартизируют по белку, после чего средство аутоцитокины 1 готово для первого сеанса подкожного введения. Из кишечной палочки, выделенной из фекалий больного, известным способом готовят аутовакцину, хранят ее при температуре + 4°C и используют по мере надобности для получения аутоцитокинов 2.

По истечении 6-7 суток от первого введения аутоцитокинов у больного повторно берут 10,0 мл крови из локтевой вены, выделяют мононуклеары и культивируют их *in vitro* при температуре 37°C в течение 3 ч в присутствии митогена ФГА (10 мкг/мл среды) и аутовакцины, приготовленной из кишечной палочки, выделенной из фекалий больного. Надосажд, содержащий аутоцитокины, стимулированные этой аутовакциной, так же стандартизируют по белку, после чего аутоцитокины 2 готовы для второго сеанса подкожного введения.

Использование заявляемого способа иллюстрируют следующие конкретные примеры.

Пример 1. Больная К., 43 лет, история болезни №273, поступила в клинику заболеваний кишечника УкрНИИ гастроэнтерологии 05.02.1997 г. с жалобами на вздутие живота, урчание, боль по ходу кишечника, в области заднего прохода, понос до 6 раз в сутки, наличие в кале слизи и крови. Болеет в течение 5 месяцев. Лечилась стационарно без эффекта.

Объективно: Общее состояние неудовлетворительное, кожа бледная, снижение массы тела, повышение температуры тела до 37,6°C, АД 115/70 мм рт. ст., пульс 80 уд. в 1 мин., удовлетворительных свойств. Язык обложен белым налетом. Живот при пальпации болезнен в левой подвздошной области. Стул 5-6 раз в сутки, кал кашицеобразный с примесью слизи и крови. Объем кровопотери до 50 мл в сутки. Ректоскопически до 20 см слизистая прямой кишки без сосудистого рисунка, резко гиперемирована, отечна, легко травмируется, при контакте кровоточит, местами эрозирована, покрыта фибриным налетом, складки сглажены. Заключение: неспецифический язвенный колит в фазе обострения. Цитологическое исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки толстой кишки: слизистая эрозирована, выраженные признаки аллергизации, характерные для неспецифического язвенного колита. Аг, крови: Нв 138 г/л, эр. $4,4 \times 10^{12}$, цв. пок. 0,94, лейкоц. - $4,1 \times 10^9$ СОЭ 15 мм/ч. Иммунограмма: количество Т-лимфоцитов снижено до $0,58 \times 10^9$ кл/л, соотношение регуляторных субпопуляций нарушено за счет увеличения количества Т-супрессоров до $0,56 \times 10^9$ кл/л, индекс соотношения регуляторных субпопуляций снижен (0.93), активация фагоцитарной системы (НСТ - тест - 32%).

Диагноз: неспецифический язвенный колит, хроническая рецидивирующая форма, средней степени тяжести, в фазе обострения, синдром приобретенного иммунодефицита.

В первый же день у больной взята венозная кровь для приготовления аутоцитокинов 1 и посеяны фекалии для идентификации микробного пейзажа толстой кишки с последующим приготовлением аутовакцины и затем аутоцитокинов 2 для повторного сеанса инъекций.

После этого в этот же день начато комплексное лечение, включающее диету 4в, прием желе карбюлозы по 100,0 г 3 раза в день между приемами пищи в течение 7 дней, сульфасалазин 0,5 г 4 раза в день в течение 15 дней, биоспорин по 2 дозы 2 раза в день в течение 2 недель, 5 микроклизм с 0,25% раствором колларгола и 10 - с каротинным маслом. Несмотря на проводимое лечение, улучшения не наступало, поэтому на 8-й день пребывания в клинике применена АЦКТ на фоне продолжения базисного лечения, для чего подкожно на внутренней поверхности правого предплечья в 7 точек ввели 2,5 мл (по 0,3-0,4 мл) аутоцитокинов 1, приготовленных с помощью стимуляции вакциной BCG. После их введения наблюдалась небольшая гиперемия кожи в местах инъекций диаметром не более 1 см. Спустя 2 дня после первой АЦКТ (на 10-й день пребывания в стационаре) самочувствие и объективное состояние больной значительно улучшилось, нормализовалась температура тела, исчезла боль в животе, прекратилось выделение крови и слизи из прямой кишки, нормализовался стул. Через 6 дней после первого сеанса АЦКТ в область внутренней поверхности левого предплечья внутривенно в 7 точек введено 2,5 мл аутоцитокинов 2, полученных в результате стимуляции аутологических мононуклеарных клеток больной аутовакциной, приготовленной с помощью кишечной палочки, выделенной из содержимого толстой кишки пациентки. Самочувствие и объективно состояние больной продолжало улучшаться: появился аппетит, исчезла общая слабость, прибавила в массе. После курса лечения в контрольном исследовании иммунного статуса, произведенном 24.11.97 г. отмечены значительные изменения: абсолютное количество Т-лимфоцитов - $1,16 \times 10^9$ кл/л В-лимфоцитов - $0,54 \times 10^9$ кл/л, индекс соотношения Т-хелперов к Т-супрессорам - 2,1. НСТ тест - 15%. Заключение: в динамике комплексного лечения у больной в 2 раза увеличилось содержание Т-лимфоцитов (с $0,58 \times 10^9$ кл/л до $1,16 \times 10^9$ кл/л), нормализовалось соотношение регуляторных субпопуляций Т-хелперов к Т-супрессорам (с 0,93 до 2,1), нормализовалась фагоцитарная активность полиморфно-ядерных нейтрофилов. Контрольная ректоскопия после лечения: на протяжении 20 см слизистая прямой кишки бледная, тусклая, складчатость сглажена, эрозий и язв нет. Заключение: в динамике комплексного лечения с применением АЦКТ эндоскопически отмечено значительное улучшение состояния слизистой оболочки прямой кишки с

устранением признаков НЯК и наличием лишь признаков субатрофического проктита.

В удовлетворительном состоянии 27.11.97 г. больная выписана домой под диспансерное наблюдение. Продолжительность стационарного лечения у больной составила 22 дня.

Пример 2. Больной П., - лет, история болезни №1469, поступил в клинику 03.09.96 г. с жалобами на значительное ухудшение самочувствия: резкую общую слабость, повышение температуры тела свыше 38°C, отсутствие аппетита, похудание, понос более 10 раз в сутки, непрерывные тенезмы и ложные позывы на стул, жидкий кал содержит много слизи, гноя, крови. Болеет в течение 3 лет, неоднократно лечился амбулаторно и стационарно с кратковременным улучшением. При поступлении в стационар установлено: состояние больного тяжелое, бледен, истощен, температура тела 38,4°C. АД 140/80 мм рт. ст., пульс 80 в 1 мин., удовлетворительного наполнения и напряжения. Язык обложен белым налетом, влажный. Живот при пальпации урчит, болезненный в нижних отделах, стул 10-15 раз в сутки, жидкий, обильная примесь в нем слизи, крови, гноя. Объем кровопотери более 50 мл в сутки. Колоноскопия: толстая кишка осмотрена до печеночного угла, слизистая ее на всем протяжении отечная, рыхлая, с обилием эрозивно-геморрагических образований и язв, контактно кровоточит. Цитологическое исследование мазков со слизистой оболочки прямой кишки: эрозированная слизистая с признаками гнойного воспаления, выраженным аллергическим компонентом, характерным для НЯК. Исследование микрофлоры кала: отклонения за счет повышенной численности фекальных энтерококков и сниженного содержания бифидофлоры. Анализ крови: Нв 89 г/л, СОЭ 45 мм/ч. Иммунограмма: содержание Т-лимфоцитов $0,33 \times 10^9$ кл/л, В-лимфоцитов - $0,16 \times 10^9$ кл/л, Т-хелперов - $0,27 \times 10^9$ кл/л, индекс соотношения Т-хелперов к Т-супрессорам - 0,7, Заключение: дефицит количества циркулирующих в крови Т-клеток с нарушением регуляторных механизмов иммунитета.

Диагноз: неспецифический язвенный колит, хроническая рецидивирующая форма, тяжелое течение, в стадии обострения, гипохромная анемия, синдром приобретенного иммунодефицита.

При поступлении у больного взята венозная кровь для приготовления аутоцитокинов 1 и одновременно посеян кал для идентификации микробного пейзажа содержимого толстой кишки с последующим приготовлением аутоцитокинов 2.

С первого дня больному назначено лечение: диета 4, сульфасалазин по 0,5 г 3 раза в день, метрогил по 100,0 г внутривенно капельно 2 раза в день в течение 5 дней, солизим по 1 табл. 3 раза в день, биоспорин по 2 дозы 2 раза в день.

В связи с отсутствием положительной динамики в клиническом течении болезни несмотря на адекватное комплексное лечение достаточной продолжительности (20 дней) 25.09.96 г., на 21-й день лечения больному в 7 точек внутренней поверхности правого предплечья подкожно введены аутоцитокины 1 в объеме 2,5 мл (по 0,3-0,4 мл в каждую точку), приготовленные путем стимуляции мононуклеарных клеток крови больного митогеном ФГА и вакциной BCG. Через 5 дней (с 30.09.96 г.) у больного уменьшилась частота стула до 6 раз в сутки, прекратилось выделение крови с фекалиями. Через 7 дней, 02.10.96 г. сеанс АЦКТ повторен: в 7 точек левого предплечья подкожно введены аутоцитокины 2 в количестве 2,5 мл (0,3-0,4 мл в каждую точку), приготовленные путем стимуляции мононуклеарных клеток крови больного митогеном ФГА и аутовакциной из кишечной палочки, выделенной из содержимого толстой кишки больного.

На второй день, после повторного сеанса АЦКТ, 03.10.96 г. самочувствие значительно улучшилось: нормализовалась температура тела, улучшился аппетит, частота стула у пациента уменьшилась до 3 раз в сутки.

В результате комплексного лечения с включением АЦКТ произошли следующие изменения объективных показателей. Общий анализ крови 05.10.96 г.: Нв 123 г/л, СОЭ 13 мм/ч, нормализовались все изучаемые показатели иммунограммы: абсолютное количество циркулирующих в крови Т-лимфоцитов ($1,11 \times 10^9$ кл/л), В-лимфоцитов ($0,37 \times 10^9$ кл/л) индекс соотношения регуляторных субпопуляций Т-хелперов к Т-супрессорам - 2,8. Контрольная колоноскопия 05.10.96 г. выявила лишь гиперемию слизистой оболочки и некоторую отечность. Эрозии и язвы исчезли. Эндоскопически и морфологически остались лишь признаки хронического колита. При контрольном анализе микрофлоры кала 05.10.96 г. выявлено лишь некоторое снижение бифидобактерий. Больной выписан из клиники 07.10.96 г. в удовлетворительном состоянии. Предложенным способом в клинике заболеваний кишечника Украинского НИИ гастроэнтерологии пролечено 25 больных неспецифическим язвенным колитом (20 - средней тяжести, 5 - тяжелой степени течения заболевания). Контрольную группу составили 15 больных НЯК (13 - средней тяжести, 2 - тяжелой степени течения заболевания), которые получили лечение по прототипу.

Результаты сравнения эффективности лечения больных НЯК по предложенному способу и прототипу представлены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, при использовании предложенного способа лечения эффект наступает значительно раньше, с более полным охватом клинических проявлений, в большем проценте случаев, чем при лечении по прототипу, что обусловлено благоприятным влиянием на иммунный статус, отсутствием побочных явлений, и ведет к значительному сокращению продолжительности стационарного лечения.

Главное достоинство предложенного способа в более высокой лечебной эффективности за счет достижения восстановления показателей клеточного иммунитета, что представлено в табл. 2.

Как следует из данных, представленных в табл. 2, лечение больных НЯК, проведенное по способу, принятому в качестве прототипа, несмотря на достигнутое клиническое улучшение, не оказало существенного влияния на динамику изученных показателей иммунитета.

Лечение, проведенное по предложенному способу, с применением в комплексе 2 сеансов АЦКТ аутоцитокинами двух видов, стимулированных различными индукторами, в сочетании с карбюлозой, биоспорином и салофальком привело к статистически значимому увеличению количества циркулирующих в крови Т-лимфоцитов (Е-РОК), активной субпопуляции их (ак Е-РОК), Т-лимфоцитов-хелперов (СД₄-РОК), нормализации количества Т-лимфоцитов-супрессоров, что обусловило нормализацию соотношения регуляторных субпопуляций Т-хелперов к Т-супрессорам (индекс повысился с $1,25 \pm 0,12$ до $2,84 \pm 0,42$, $P < 0,01$, при норме у доноров $2,51 \pm 0,08$). Этот же положительный эффект хорошо проиллюстрирован двумя

приведенными примерами.

Общая оценка результатов лечения 2 групп больных (по предложенному способу и по прототипу) представлена в табл. 3.

Следовательно, заявляемый способ лечения больных неспецифическим язвенным колитом позволяет значительно повысить эффективность консервативного лечения, сократить сроки стационарного лечения на 4-5 дней, достичь восстановления иммунного статуса, что является залогом длительной ремиссии заболевания.

Таблица 1

Сравнение показателей эффективности лечения больных НЯК предложенным способом и прототипом

Симптомы и объективные	Результаты лечения			
	по прототипу		по предложенному способу	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общая слабость	100% б-ных	40% б-ных	100% б-ных	21% б-ных
Повышение температуры тела	16% --	0% --	20% --	0% --
Частота стула 1-3 раза в сутки	0% --	70% --	0% --	89% --
4-10 раз в сутки	40% --	20% --	47% --	11% --
<10 раз в сутки	60% --	10% --	53% --	0% --
Патологические примеси в кале с:				
Слизь	100% б-ных	40% б-ных	100% б-ных	15% б-ных
Кровь	100% --	30% --	100% --	0% --
Гной	30% --	0% --	26% --	0%
Боль в животе	100% --	10% --	100% --	11% --
Анемия	30% --	0% --	26% --	0%
Увеличение СОЭ	80% --	40% --	89% --	26% --
Эрозивно-язвенные элементы в слизистой оболочке толстой кишки:				
отсутствуют	0%	0%	0%	0%
единичные	0%	0%	0%	10%
множественные	100% --	30% --	100% --	5% --
Срок улучшения (день от начала лечения)	7-й-12-й		2-й-6-й	
Продолжительность стационарного лечения (средн. койко-день)	31,7		26,1	
Благоприятное влияние на клеточный иммунитет	-		+	
Устранение дефицита потенциала фагоцитоза	-		+	
Нормализация клиренса ЦИК	-		+	
Наличие побочных реакций	+ (Аллергия-)		-	

Сравнение динамики иммунологических показателей у больных НЯК, леченных по предложенному способу с донорами

Группы больных	Срок обследования	Показатели иммунитета (М±m)					
		Лимфоциты (10 ⁹ кл/л)	Популяции лимфоцитов (10 ⁹ кл/л)				
			аЕ-РОК	Е-РОК	СД4-РОК	Е45-РОК	ЕАс-РОК
Группа больных, леченных по предложенному способу (n=25)	до лечения	1,69±0,17	0,46±0,06	0,47±0,07	0,37±0,06	0,33±0,07	0,35±0,04
	после лечения	1,84±0,13	0,82±0,09	0,76±0,07	0,77±0,08	0,28±0,03	0,49±0,06
	P ₁	>0,05	<0,01	<0,05	<0,001	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
Контрольная группа б-х, леченных по прототипу (n=15)	до лечения	1,69±0,11	0,57±0,14	0,55±0,15	0,35±0,10	0,30±0,03	0,37±0,03
	после лечения	1,64±0,33	0,37±0,11	0,45±0,05	0,36±0,08	0,27±0,03	0,34±0,05
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	<0,05	<0,001	<0,01	>0,05	>0,05
Здоровые доноры n=30		1,81±0,09	0,6±0,04	0,87±0,05	0,67±0,04	0,29±0,02	0,31±0,02

P₁ – статистические различия между соответствующими показателями обследованных групп больных

P₂ – статистические различия между соответствующими показателями больных после лечения и здоровых доноров

Т а б л и ц а 3

Эффективность лечения больных НЯК

Оценка	По прототипу (n=15)	По предложенному способу (n=25)
Хорошие	47%	84,2%
Удовлетворительные	53%	15,8%
Неудовлетворительные	0	0