

Н.М. Третяк
О.В. Басова
А.П. Рибальська
Н.В. Горяїнова
О.О. Федоровська

ДУ «Інститут гематології
та трансфузіології»
АМН України, Київ, Україна

ПРОФІЛАКТИКА ІНФЕКЦІЙНО- ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПОСТЦИТОСТАТИЧНОЇ МІЄЛОСУПРЕСІЇ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ЛЕЙКЕМІЮ

Ключові слова: гостра лейкемія, інфекційно-запальні ускладнення, антибіотикотерапія, пробіотик, гранулоцитарні колонієстимулюючі фактори.

Резюме. У роботі розглядаються питання щодо профілактики інфекційно-запальних ускладнень у пацієнтів із гострою лейкемією. Це досягається за рахунок етіотропної антибіотикотерапії, корекції дисбактеріозу кишечника пробіотиком, застосування гранулоцитарних колонієстимулюючих факторів.

ВСТУП

Останні десятиліття ознаменовані значними відкриттями, що відбулися в онкогематології і дозволили успішно лікувати захворювання, які раніше вважалися фатальними [1–3].

Незважаючи на успіхи нових методів лікування, поліхіміотерапія залишається провідною у лікуванні гострої лейкемії (ГЛ), проте неминуче призводить до розвитку вираженої мієлосупресії та створює передумови для виникнення тяжких інфекційних ускладнень.

Нейтрофіли є першим компонентом природного захисту організму проти бактеріальної та мікотичної флори. Постцитостатична мієлосупресія, зокрема глибока нейтропенія, зумовлює безперешкодне розмноження та поширення збудників інфекційно-запальних процесів, формування септичного вогнища, а в подальшому і сепсису, який без ефективного лікування закінчується летально.

За абсолютною кількістю гранулоцитів нейтропенія поділяється на 4 ступені: 1-й ступінь — нейтрофільні гранулоцити складають $> 1,0 \times 10^9/\text{л}$, 2-й ступінь — $(0,5-1,0) \times 10^9/\text{л}$, 3-й ступінь — $(0,1-0,5) \times 10^9/\text{л}$, 4-й ступінь — $< 0,1 \times 10^9/\text{л}$.

Зменшення кількості нейтрофілів $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, за даними J.P. Vodey, підвищує ризик виникнення інфекційно-запальних ускладнень (ІЗУ) на 50%, змінює клінічну картину останніх, ускладнює їх своєчасну діагностику [2]. Нейтропенія 3–4-го ступеня зумовлює виникнення серйозних інфекцій у 80–100% випадків [2, 3]. Гіпертермія нерідко за таких умов є єдиною ознакою початку інфекційно-запального процесу. Метаморфоза клінічних проявів у хворих з мієлосупресією, відсутність достовірних диференційних критеріїв, які дозволили б розмежувати гіпертермію пухлинного та інфекційного генезу, недопустимість зволікання з призначенням антибактеріальної терапії внаслідок різкого погіршення прогнозу захворювання змушують вважати лихоманку достатньою передумовою для призначення антибактеріальних засобів [2]. У 70-х

роках минулого сторіччя, коли вперше була запропонована концепція емпіричної антибактеріальної терапії, переважали ускладнення зумовлені у 60–70% грацилікотними бактеріями, однак, за даними Міжнародної кооперативної групи з антимікробної терапії Європейського товариства з вивчення та лікування раку, частка грацилікотних бактерій на теперішній час складає 31–33%, тоді як фірмакутних — 60–70% [4]. Основними причинами подібної ситуації є призначення на перших етапах антибактеріальної терапії фторхінолонів, найбільш активних насамперед до грацилікотних бактерій, проведення ними селективної деконтамінації шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [2–5].

Фізіологічними бар'єрами на шляху патогенних агентів є неушкоджені шкірний покрив та слизова оболонка ШКТ людини. Секрети потових та сальних залоз створюють кисле середовище, зумовлене наявністю жирних кислот, яке має протимікробну активність, здатну до елімінації патогенів. Використання у лікуванні судинних катетерів порушує цілісність шкіри хворого та сприяє проникненню інфекції до кровотоку. Інфекцію зовнішньої частини катетера відзначають значно рідше, ніж його внутрішньої поверхні, що зумовлена *Corynebacterium spp.*, грибами роду *Candida*, а також *Stomatococcus mucilaginosus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter spp.* та ін. [2, 4].

Серед фірмакутних збудників, що призводять до бактеріємії, домінують *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus viridans*, а основними джерелами інфекції є оточуюче середовище та руки медичного персоналу. У хворих на ГЛ фізіологічні бар'єри під впливом цитостатичної терапії значно втрачають свої захисні можливості, створюючи умови для інфікування. Інфекція шкіри та м'яких тканин найчастіше представлена целюлітом та абсцесами, збудником яких у 40% випадків є золотистий стафілокок, 29,5% ізолятів якого є метицилін-резистентними штамми [6, 7].

Поверхня слизових оболонок організму є фізичним розмежуванням між імунною системою та

зовнішнім середовищем. Першою лінією захисту імунної системи слизових оболонок є епітеліальний бар'єр. Кишечник містить найбільшу частину лімфоїдної тканини слизових оболонок, а також має найбільшу та найрізномірнішу мікробіоту, що складається із більш ніж 500 видів бактерій [2, 8]. Епітелій кишечника представлений поляризованим моношаром клітин, покритих слизом, у якому знаходяться мікроорганізми. Апікальна поверхня епітеліальних клітин вкрита секреторним імуноглобуліном А та має шар глікокаліксу. В тонкому кишечнику містяться спеціалізовані епітеліальні клітини — клітини Панета, які відіграють важливу роль в природних захисних механізмах кишечника, регулюючи кількість мікроорганізмів шляхом продукції різних протимікробних білків (дефензінів), що мають широкий спектр активності проти фірмакутних та грацилікутних бактерій.

Імунна система кишечника є складним ланцюгом, створеним із різних популяцій лімфоїдних, нелімфоїдних клітин та гуморальних факторів. Антигени, що знаходяться в порожнині кишечника, наприклад антигени коменсалів, патогенних мікроорганізмів та харчових продуктів, захоплюються спеціалізованими та неспеціалізованими антигенпрезентуючими клітинами. Вони контролюють як адаптивний імунітет (наприклад, диференціювання неактивованих Т-клітин в ефекторні Т-клітини, необхідні для знищення патогенів, та в регуляторні Т-клітини), так і вроджений імунітет (наприклад активіацію НК-клітин). Такі антигенпрезентуючі клітини, як дендритні, можуть відкривати щільні міжклітинні контакти між епітеліальними клітинами, випускати дендрити за межі епітелію та безпосередньо захоплювати бактерії [8, 9]. Завдяки експресії ними білків щільного міжклітинного контакту, таких як оклюдин та клаудин-1, підтримується цілісність епітеліального бар'єру.

ШКТ є основним резервуаром грацилікутних бактерій та дріжджоподібних грибів, більшість з яких, конкуруючи за зони вільного простору та поживні речовини, зосереджена на слизовій оболонці ротової порожнини та кишечника.

За деякими даними в організмі людини нараховується близько 10^{14} мікроорганізмів, організованих у так звані біоплівки — співіснування та взаємодія різних типів бактерій, що згруповані в мікроколонії та оповиті захисним матриксом. Матрикс пронизаний каналами, якими циркулюють поживні речовини, продукти життєдіяльності, ферменти, метаболіти та кисень. Усі мікроколонії мають свої мікросередовища, що відрізняються рівнями рН тощо. Мікроорганізми в біоплівці стійкіші до зміни середовища, дії антибіотиків та інших агентів [8]. Консорціум мікроорганізмів являє собою єдину генетичну систему у вигляді плазмід — кільцевих ДНК, що визначають код поведінки для членів біоплівки та диктують зв'язок між собою та зовнішнім світом. Чутливість до антибіотиків мікроорганізмів асоційованих у біо-

плівку не відповідає тій, що визначена в лабораторних тестах на клінічних ізолятах чистих культур бактерій. Колективний імунітет біоплівки часто зводить нанівець застосування антибіотиків та можливість корекції дисбактеріозів за допомогою пробіотиків. Безсумнівно, вони мають ефект, але не завжди і не такий, як очікується. Наявність біоплівок зумовлює підвищення доз антибіотиків та пробіотиків, необхідних для досягнення успіху.

Мікробна флора кишечника з переважанням анаеробів відіграє вирішальну роль у підтриманні «здорової» мікрофлори, здатної протидіяти патогенній флорі, що отримало назву колонізаційної резистентності [2]. Зниження колонізаційної резистентності (залежить від мікробної флори, стану слизових оболонок, продукції слини, перистальтики, кислотності шлункового соку, рівня секреторного імуноглобуліну А тощо) призводить до колонізації дріжджовими грибами, госпітальними штамами грацилікутних бактерій та ентерококів. До зміни колонізаційної резистентності часто приводить застосування антибактеріальних препаратів, що спричиняє зниження кількості лактобактерій. Біфідобактерії швидко гинуть при дії пеніциліну, рифампіцину, кліндаміцину, ванкомицину. Деякі цефалоспори (цефтриаксон, цефобід, цефотаксим) також порушують колонізаційну резистентність, тоді як фторхінолони зазвичай не виявляють подібного впливу. При застосуванні поліхіміотерапії можливе ураження слизової оболонки ШКТ (мукозити), що створює вхідні ворота для мікроорганізмів, які вегетують у порожнині рота.

Інтенсифікація програм хіміотерапії, яка спричиняє мієлосупресію, та введення нових цитостатичних препаратів у лікування гемобластозів зумовлюють зростання мікотичних, бактеріальних та вірусних інфекцій, появу нових патогенних агентів.

Одними з найбільш загрозливих у гематологічній практиці ускладнень є гострі запальні ураження ШКТ, зумовлені взаємодією таких етіологічних чинників, як руйнівна дія цитостатичних препаратів на епітелій слизової оболонки (аж до розвитку виразок та некрозів), порушення системи загального та місцевого імунітету, мієлосупресія, зміна спектра мікрофлори кишечника (як правило, під впливом антибактеріальної та гормональної терапії) тощо. «Некротична ентеропатія» — термін, що найчастіше використовується в літературі для визначення гострого ІЗУ кишечника, спричиненого комплексом вищевказаних факторів [2]. Патоморфологічною основою захворювання є руйнація активно проліферуючого епітелію та лімфатичного апарату стінки кишечника з утворенням ерозій та виразок на слизовій оболонці, глибоке проникнення в стінку кишечника умовно патогенної мікрофлори з подальшою колонізацією. Прогресування некротичних та запальних змін призводить до порушення бар'єрної функції стінки кишечника та проникнення інфекції в судинне русло і вільну черевну порожнину. За таких умов можливий

розвиток перитоніту та сепсису, перебіг яких визначається характером домінуючої мікрофлори [10].

Знизити ризик виникнення ІЗУ дозволяє зменшення тривалості та глибини мієлосупресії за рахунок застосування гранулоцитарних колонієстимулюючих факторів (Г-КСФ) [11–14]. Г-КСФ є глікопротеїнами, що стимулюють і прискорюють утворення та дозрівання нейтрофілів, еозинофілів та моноцитів. Вони також прискорюють вихід дозрілих нейтрофілів із депо кісткового мозку, підсилюють здатність нейтрофілів до хемотаксису та фагоцитозу. На цих властивостях Г-КСФ ґрунтується їх застосування при лікуванні постцитостатичної мієлосупресії та фебрильної нейтропенії. Контрольовані дослідження показали, що при розвитку інфекції на фоні значного зниження нейтрофілів призначення Г-КСФ майже вдвічі знижує тривалість застосування антибактеріальної терапії.

Дослідження, проведені австралійськими та американськими авторами у хворих на гостру лімфобластну лейкемію, показали, що Г-КСФ не впливають на проліферацію пухлинних клітин, не знижують відсоток досягнення ремісій, достовірно скорочують тривалість аплазій та відсоток інфекційних ускладнень.

Одним із важливих заходів, що дозволяє вирішувати проблему ІЗУ, є характеристика мікробіоти біотопів носоглотки, зіву та випорожнень хворих, а також вивчення ізолюваних штамів мікроорганізмів із визначенням їх чутливості до антибактеріальних препаратів.

З метою профілактики ІЗУ уражень ШКТ у хворих на ГЛ в період відновлення показника кількості лейкоцитів до $1,5 \times 10^9$ /л проводилося фізіологічне відновлення порушеного кишкового біоценозу за допомогою пробіотиків. Пробіотики — це життєздатні компоненти нормальної кишкової мікрофлори, найчастіше лакто- та біфідобактерії [15]. Використання пробіотиків дозволяє швидше нормалізувати порушені функції ШКТ та знизити відсоток інфекційних ускладнень ШКТ у пацієнтів з лейкемією на фоні мієлосупресії.

Метою роботи було виявлення мікробіологічних факторів ризику виникнення ІЗУ та їх профілактика за допомогою пробіотичного препарату у хворих на ГЛ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 70 пацієнтів із різними варіантами ГЛ. Серед них — 28 чоловіків і 27 жінок, хворих на гостру мієлобластну лейкемію, та 11 чоловіків і 4 жінки, хворих на гостру лімфобластну лейкемію. Вік хворих — від 19 до 78 років. Діагноз встановлювали на підставі стандартних клініко-гематологічних досліджень [1, 2].

ІЗУ діагностували на підставі клінічних проявів, результатів лабораторних, інструментальних та рентгенологічних досліджень.

У процесі обстеження хворих, а також за наявності гнійно-запальних ускладнень, проводили мікробіологічні дослідження слизових оболонок носової порожнини, зіву, товстого кишечника. Мікроорганізми ізолювали на щільних (Сабуро, кров'яному, м'ясопептонному, жовточно-сольовому) та рідких поживних середовищах (глюкозному, м'ясопептонному бульйоні та MRS). Дослідження мікрофлори товстого кишечника виконували відповідно до методичних документів [16–18].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті мікробіологічного моніторингу біотопів носової порожнини та зіву хворих на ГЛ як з ІЗУ, так і без них було ізолювано 693 штами мікроорганізмів, серед яких: *Streptococcus spp.* (22,37%), *Staphylococcus spp.* (22,08%), *Candida* (8,95%), *Enterococcus* (7,5%), *Lactobacillus* (5,19%), *Micrococcus* та *Penicillium* (по 2,16%), *Corynebacterium* (1,59%), *Klebsiella* (1,3%). Інші мікроорганізми були представлені у кількості 0,14–0,72%. Загалом — 15,02% фірмакутних і грацилікутних кокових та паличкових культур були не ідентифіковані. Найбільш чутливими антибіотиками щодо мікроорганізмів роду *Staphylococcus* були препарати групи аміноглікозидів, тетрациклінів, макролідів, фторхінолонів, цефалоспоринів.

За результатами мікробіологічного моніторингу біотопів хворих на ГЛ з порожнини носа та зіву 52,0% пацієнтів було ізолювано 62 штами дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Ідентифікація виділених штамів роду *Candida* на основі морфолого-культуральних та фізіолого-біохімічних властивостей показала, що найбільшу частку асоціантів складав вид *Candida albicans* — 47,83% випадків.

Результати вивчення чутливості до антимікотичних препаратів дріжджоподібних грибів, що були ізолювані із різних біотопів хворих на ГЛ, показали: активнішими препаратами є клотримазол, ністатин та амфотерицин В.

За результатами мікробіологічних досліджень хворим з ризиком виникнення ІЗУ (наявність умовно патогенної мікрофлори у кількості більше ніж 10^3 КУО/мл або нетипових представників для даних біотопів) з профілактичною метою призначали антибіотики за виявленою індивідуальною чутливістю збудників.

Аналіз результатів дослідження початкового якісного та кількісного складу мікробіоценозу кишечника та порівняння його з показниками здорових осіб показав, що дисбіотичні порушення кишкового ценозу хворих спостерігали в анаеробній ланці — біфідобактерії у титрах нижче норми (10^7 КУО/г) мали тільки 12,5% хворих, в інших вони були зовсім відсутні. Лактобацили, ентерококи були присутні у всіх хворих, однак часто виявлялись у низьких титрах (10^3 – 10^5 КУО/г), що менше норми у 100 та більше разів. Водночас умовно патогенні бакте-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

рії, зокрема *Klebsiella spp.*, *Enterobacter aerogenes*, ізолювали у 31,25% пацієнтів у кількості до 10^9 КУО/г, що значно перевищувало допустимі значення.

Пробіотичний препарат вітчизняного виробництва, що включав культури біфідобактерій, лактобацил та термофільних стрептококів, призначали 20 хворим на ГЛ після курсу хіміотерапії в період відновлення показника кількості лейкоцитів до $1,5 \times 10^9$ /л.

Після 2 тиж прийому пробіотику біфідобактерії ізолювали у 40,0% хворих, що отримували препарат, а через 1 міс — у 66,67%. При цьому кількісний вміст їх наближався до норми (10^8 КУО/г). Водночас частка хворих, з біотопів яких виділяли дріжджоподібні гриби роду *Candida*, зменшилась з 47,83 до 33,33%.

Знизити ризик виникнення ІЗУ дозволяє також зменшення тривалості та глибини мієлосупресії за рахунок застосування у комплексному лікуванні хворих гранулоцитарних колонієстимулюючих факторів (нейпоген, гранацил, неуластім), які призначали в період нейтропенії.

ВИСНОВКИ

1. У результаті моніторингу мікрофлори біотопів носової порожнини та зіву хворих на ГЛ виявлено стан дисбіозу та виділено 693 штами культур мікроорганізмів (у тому числі ймовірно збудники ІЗУ) у кількості 10^1 – 10^6 КУО/мл.

2. Показано наявність дисбіотичних порушень у мікробіоценозі біотопу кишечника хворих на ГЛ у період цитостатичної терапії та після неї.

3. Призначення пробіотичного препарату, який включає культури біфідобактерій, лактобацил та термофільних стрептококів, має позитивний вплив на відновлення мікрофлори кишечника, насамперед анаеробних асоціантів, що знижує ризик виникнення ІЗУ у хворих на ГЛ.

4. Застосування Г-КСФ зменшило глибину і тривалість мієлосупресії та дозволило скоротити кількість ІЗУ.

5. Виявлення можливих етіологічних факторів та своєчасно проведені профілактичні заходи дозволяють запобігти виникненню ІЗУ, вчасно проводити адекватну хіміотерапію та покращувати загальний стан хворих.

ЛІТЕРАТУРА

1. Третяк НМ. Гематологія. Київ: Зовнішня торгівля, 2005. 234 с.
2. Волкова МА. Клиническая онкогематология. Москва: Медицина, 2001. 576 с.
3. Воробьев АИ. Руководство по гематологии. Москва: Ньюдиамед, 2003. 280 с.
4. Клясова ГА, Толкачева ТВ, Петрова НА. Эволюция микроорганизмов при миелотоксическом агранулоцитозе. Гематол и трансфузиол 2001; 46 (3): 38–47.
5. Bucaneve G, Micozzi A, Menichetti F, et al. Levofloxacin to prevent bacterial infection in patients with cancer and neutropenia. N Engl J Med 2005; 353: 977–87.

6. Weigelt J, Kaafarani HM, Itani KM, Swanson RN. Linesolid eradicates MRSA better than vancomycin from surgical-site infections. Am J Surg 2004; 188: 760–6.

7. Solomkin JS, Bjornson HS, Cainsos M, et al. A consensus statement on empirical therapy for suspected gram-positive infections in surgical patients. Am J Surg 2004; 187: 134–45.

8. Baumgart DC, Carting SR. Inflammation in bowel disease: cause and immunology. Lancet 2007; 369: 1627–40.

9. Nitss JH, Brand S, Gu X, et al. CX3CR1 — mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. Science 2005; 307: 2545–8.

10. Карагуляк СР, Загреков ІА, Захаров ГН и др. Гематологическая хирургия к началу XXI века. Гематол и трансфузиол 2001; 46 (3): 55–9.

11. Ozer H, Ding B, Dreiling L. The impact of first and subsequent cycle pegfilgrastim on neutropenic events in patients receiving myelosuppressive chemotherapy in community practice: Interim results of the prospective FIRST study. Community Oncol 2006; 3: 256–64.

12. Hoelzer D. Hematopoietic growth factors — not whether, but when. N Engl J Med 1997; 336: 1822–4.

13. Godwin JE, Kopecky KJ, Head DR, et al. Double blind placebo controlled trial of G-CSF in elderly patients with previously untreated AML: a South Western Oncology Group (SWOG) study (9031). Blood 1998; 91: 3607–10.

14. Uyl-de Groot CA, Lowenberg B, Velienga E, et al. Cost effectiveness and quality of life assessment of GM-CSF as an adjunct to intensive remission induction chemotherapy in elderly patients with acute myeloid leukemia. Br J Haematol 1998; 100: 629–36.

15. Панчук СМ. Физиологический щит от кишечных инфекций. Мед газета «Medicus Amicus» 2005; (3): 4–6.

16. Биргер МО. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. Москва: Медицина, 1982. 229 с.

17. Микробиологическая диагностика дисбактериозов. Методические рекомендации МОЗ УРСР. Киев, 1986. 15 с.

18. Диагностика та лікування дисбактеріозу кишечника у ревматологічних хворих. Київ: Знання, 1999. 22 с.

PROPHYLAXIS OF INFECTIOUSLY INFLAMMATORY COMPLICATIONS OF POSTCYTOSTASTIC MIELOSUPRESION FOR PATIENTS ON ACUTE LEUKEMIA

N.M. Tretyak, O.V. Basova, A.P. Rybalska, N.V. Goryainova, O.O. Fedorovska

Summary. The questions of prophylaxis of infectious inflammatory complications of patients with acute leukemia are examined in work. It is achieved due to the following: etiotropic antibiotic therapy, correction of dysbacteriosis to the intestine of probiotics, using of granulocytes colony stimulating factors.

Key Words: acute leukemia, infectious inflammatory complications, antibiotic therapy, probiotics, granulocytes colony stimulating factors.

Адреса для листування:

Третяк Н.М.
04060, Київ, вул. М. Берлінського, 12
ДУ «Інститут гематології та трансфузіології»
АМН України
E-mail: arybalska@ukr.net