

УДК 616-006:616.35

ББК 55.6

П-58

*Попова Наталья Николаевна, заведующая отделением анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ГУ Адыгейского республиканского клинического онкологического диспансера, т.: (88772)540659, 89284703975; e-mail: windsdof@list.ru*

**ВТОРИЧНЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ, НАРУШЕНИЯ ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ  
И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ  
КОЛОПРОКТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**  
(рецензирована)

*Хирургическое лечение рака прямой и ободочной кишки, наряду с химиотерапевтическим и радиолучевым, является по праву одним из основных методов лечения. В данной работе изучены основные характерные изменения иммунитета, цитокинового профиля и антиоксидантной защиты у больных колоректальным раком, подлежащим хирургическому лечению, и определены основные предрасполагающие факторы для развития гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у данной категории онкологических пациентов.*

*Ключевые слова: колопроктология, аденокарцинома, иммунодефицит, цитокины, антиоксидантная защита.*

*Popova Natalia Nicholaevna, head of the department of anesthesiology and resuscitation of the Adygeyan National Clinical Oncology Center, Maikop, tel. office. 88772540659, 89284703975, e-mail: windsdof@list.ru.*

**SECONDARY IMMUNODEFICIENCY, VIOLATIONS OF CYTOKINE REGULATION AND  
ANTIOXIDANT PROTECTION IN COLORECTAL CANCER PATIENTS**

*Surgical treatment of cancer of rectum and colon, along with chemotherapy and radiation, is rightfully one of the main methods of treatment. In this paper we have studied the main characteristic changes in immunity, cytokine profile and antioxidant defense in patients with colorectal cancer, liable to surgical treatment, and the main predisposing factors for the development of inflammatory complications in the postoperative period in this category of cancer patients.*

*Keywords: proctology, adenocarcinoma, immunodeficiency, cytokines, antioxidant protection.*

В Российской Федерации ежегодно регистрируется более 40 тыс. новых случаев рака толстой кишки, он становится причиной смерти 35000 человек каждый год [1,2]. За последние 10 лет распространенность рака ободочной кишки (С18) выросла с 61,1 до 102,2 на 100 тысяч населения, рака прямой кишки, ректосигмоидного отдела и анального канала (С19-21) с 55,5 до 81,0 на 100 тысяч населения [3].

Хирургическое лечение рака прямой и ободочной кишки, наряду с химиотерапевтическим и радиолучевым, является по праву одним из основных методов лечения [4]. В структуре послеоперационных осложнений лечения рака прямой и ободочной кишки гнойно-воспалительные осложнения в брюшной полости и операционных ранах составляют 16,9-40% случаев с летальностью 11-16% [5].

Больные колоректальным раком – это, как правило, больные старше 55-60 лет, имеющие фоновую патологию, обуславливающая тяжесть исходного состояния больных. К таким факторам можно отнести наличие сопутствующих заболеваний (диабет), отдаленных очагов инфекции, предшествующее лечение кортикостероидами, иммуносупрессорами, курение, алкоголизм [6]. Для онкологических больных свойственна: гипотрофия, гипопротеинемия, анемия, хроническая гипоксия, нарушение функций жизненно важных органов, угнетение иммунореактивности [7, 8, 9].

Течение послеоперационного периода у онкопроктологических больных осложняется проявлениями опухолевого и резорбционного эндотоксикоза, обуславливающими развитие гнойно-септических осложнений, нарушение гемореологии, гемокоагуляции и антиоксидантной защиты [10, 11, 12, 13, 14].

### **Цель и задачи исследования**

Изучить основные характерные изменения иммунитета, цитокинового профиля и антиоксидантной защиты у больных колоректальным раком, подлежащим хирургическому лечению, и определить основные предрасполагающие факторы для развития гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у данной категории онкологических пациентов.

### **Материал и методы исследования**

В проспективное контролируемое исследование включены 214 больных колоректальным раком, находящихся на лечении в Адыгейском республиканском клиническом онкологическом диспансере в период с 2005 по 2009 годы.

В исследование включены пациенты в возрасте от 25 лет до 85 лет (средний возраст  $65,5 \pm 0,73$ ), за исключением больных в терминальном состоянии с явлениями выраженной декомпенсации жизненно-важных органов и систем (более 20 баллов по шкале APACHE II), а также пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Все обследованным больным предстояло оперативное лечение по поводу злокачественных новообразований с гистологически верифицированным диагнозом аденокарциномы толстого кишечника (мужчин – 110, женщин – 104). Органная локализация солидных образований: слепая кишка – 6, восходящая кишка – 13, поперечно-ободочная кишка – 20, нисходящий отдел толстого кишечника – 10, сигмовидная кишка – 40, ректосигмоидный отдел – 31, прямая кишка – 94 случая.

В качестве сопутствующей патологии преобладали заболевания сердечно-сосудистой, дыхательной и мочеполовой, которые, несомненно, предопределяет частоту развития гнойно-воспалительных осложнений в раннем послеоперационном периоде.

Достаточно часто среди обследуемых пациентов – 34 случая (14,1%) – встречались больные, перенесшие в предоперационном периоде курсы химиотерапии или ДГТ (лучевую терапию). Данные виды терапии приводили к снижению иммунитета у больных еще до начала хирургического лечения.

В работе обобщены и представлены результаты предоперационных исследований больных: Т-(CD3, CD4, CD8), В-лимфоциты (CD 72), и Ig A, IgM, IgG; цитокиновый профиль: провоспалительные IL-1, IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и противовоспалительные IL-4, IL-1ra цитокины; активность антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПД) и общей антиокислительной активности (ОАА) сыворотки крови. Забор крови осуществляли в утренние часы, натощак.

В работе использованы современные иммунологические и биохимические методы: сендвич-ИФА (ELISA) с использованием коммерческих тест-систем фирмы «R D Diagnostics» (США), иммунофенотипирования популяции и субпопуляции лимфоцитов с помощью моноклональных антител Dynabeads CD<sub>3</sub>, Dynabeads CD<sub>4</sub>, Dynabeads CD<sub>8</sub>, радиальной иммунодиффузии по Манчини (РИД), калориметрические методы.

В данном исследовании использованы результаты, полученные при применении основных методов параметрической и непараметрической статистики. Определялись следующие статистические характеристики: среднее арифметическое (M), ошибка среднего арифметического (m), Т-критерий Вилкоксона (u), коэффициент корреляции Спирмена ( $r_c$ ). Сравнение средних показателей проводили по критерию Стьюдента и коэффициенту достоверности (p).

### **Результаты и их обсуждение**

У всех 214 больных с различными стадиями опухолевого процесса толстого кишечника при поступлении в хирургический стационар определение степени тяжести проводилось на основе оценки шкалы APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, Knaus W.A. et al., 1985). Все обследованные больные колоректальным раком по тяжести общего состояния было условно разделены три подгруппы: первая (А) – больные с тяжестью состояния 4-6 баллов по шкале APACHE II – 56 человек, вторая подгруппа (В) – 7-10 баллов – 131 человек, третья подгруппа (С) 11-15 баллов – 27 человек.

Стадийность опухолевого процесса при колоректальном раке, как и при опухолевых процессах иных локализаций, мы определяли по TNM-критериям, с учетом размера опухоли, распространенности процесса, наличия метастатических очагов. Таким образом, среди обследованных больных было выявлено: стадия I (T<sub>1-2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) – 24 человека, стадия II (T<sub>3-4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>) – 66 человек, стадия III (любое T N<sub>1-2</sub>M<sub>0</sub>) – 65 человек, стадия IV (любое T N<sub>1-2</sub>M<sub>1</sub>) – 60 человек. Необходимо отметить, что отмечалась прямая корреляционная связь между тяжестью

общего состояния, определяемой по шкале АРАСНЕ II и стадией опухолевого процесса согласно классификации TNM ( $r_c = 0,236$  при  $p < 0,05$ ).

Контролем служили результаты исследований сыворотки крови 14 здоровых доноров со станции переливания крови.

При проведении анализа полученных иммунограмм выявлено, что у больных колоректальным раком исходно отмечается нарушение клеточного иммунитета в виде угнетения фагоцитоза в 1,3 раза до  $47,4 \pm 1,16\%$  ( $p < 0,05$ ) в подгруппе С, снижения уровня моноцитов на 19,4% до  $3,4 \pm 0,35\%$  относительно показателей здоровья доноров ( $4,2 \pm 0,41\%$ ), с одновременным достоверным повышением лимфоцитов в периферической крови в 1,25 раза ( $p < 0,05$ ) при  $r_c = 0,248$ ,  $p = 0,001$  (таблица 1).

Фагоцитарная активность нейтрофилов в латекс-тесте уменьшилась при увеличении степени тяжести больных на  $3,5 \pm 0,28\%$  в подгруппе С по сравнению с данными подгруппы А, что в 1,27 раза ниже показателей здоровья доноров ( $p < 0,05$ ).

Несмотря на достоверное превышение содержания в периферической крови CD4 и CD8 ( $r_c = 0,201$ ,  $p = 0,003$ ), фракций лимфоцитов во всех исследуемых подгруппах, у онкопроктологических больных исходно отмечается снижение ИРИ в 2,5 раза.

Нами отмечено также, что повышенный уровень CD3 (на  $146 \pm 67,2$  усл.ед), а также сниженные значения ИРИ (в 2,5 раза) относительно показателей здоровья доноров, не зависели от тяжести общего состояния больных.

Таблица 1 - Иммунный статус больных колоректальным раком до проведения ИТ и хирургического лечения в исследуемых подгруппах А, В, и С ( $M \pm m$ )

| Показатели    | Контроль          | Подгруппа А        | Подгруппа В            | Подгруппа С           |
|---------------|-------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|
| Лимфоциты%    | $35,5 \pm 2,85$   | $44,2 \pm 1,1$     | $45,1 \pm 0,5^*$       | $47,3 \pm 0,87^{**}$  |
| Моноциты, %   | $4,2 \pm 0,41$    | $4,4 \pm 0,27$     | $4 \pm 0,19$           | $3,4 \pm 0,35^{**}$   |
| CD3, абс.     | $1163 \pm 104,9$  | $1209 \pm 37,71$   | $1285 \pm 21,79$       | $1223 \pm 28,46$      |
| CD4, абс.     | $362,9 \pm 34,46$ | $444,3 \pm 15,4^*$ | $442,8 \pm 10,64^*$    | $408,6 \pm 9,56^{**}$ |
| CD8, абс.     | $139,3 \pm 20,42$ | $422 \pm 15,27^*$  | $412,8 \pm 10,38^{**}$ | $448,5 \pm 17,97^*$   |
| Фагоцитоз, %  | $61,5 \pm 2,11$   | $50,9 \pm 0,88^*$  | $47,9 \pm 0,39^{**}$   | $47,4 \pm 1,16^{**}$  |
| ИРИ, усл.ед.  | $2,8 \pm 0,36$    | $1,1 \pm 0,12^*$   | $1,1 \pm 0,03^*$       | $1,1 \pm 0,06^*$      |
| В-лимф., абс. | $234,3 \pm 39,26$ | $154,9 \pm 5,08$   | $172,4 \pm 3,98$       | $146 \pm 17,6^*$      |
| Ig А, г/л     | $100,7 \pm 12,1$  | $105,6 \pm 5,79$   | $104,7 \pm 1,80$       | $103,3 \pm 4,83$      |
| Ig G, г/л     | $1129 \pm 102,4$  | $1265 \pm 25,71$   | $1332 \pm 20,75^*$     | $1195 \pm 38,73$      |
| Ig М, г/л     | $112,1 \pm 14,1$  | $75,5 \pm 2,31^*$  | $85,5 \pm 2,11^*$      | $85,5 \pm 3,90$       |
| ЦИК, %        | $82,1 \pm 6,09$   | $118,6 \pm 1,35^*$ | $120,2 \pm 1,5^*$      | $113,6 \pm 4,58^*$    |

\* -  $p < 0,05$  по сравнению с показателями здоровья доноров.

\*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с показателями больных подгруппы А.

Патологические изменения коснулись и угнетения гуморального звена иммунитета: уровень Ig М ( $r_c = 0,297$ ,  $p = 0,001$ ) снижен в отношении показателей здоровья доноров на 34,7% ( $p < 0,05$ ), изменения уровней Ig G и Ig А признаны статистически недостоверными. Нами отмечена тенденция к уменьшению абсолютного количества В-лимфоцитов в 2,5 раза, достоверное повышение концентрации уровня ЦИК ( $r_c = 0,181$ ,  $p = 0,008$ ) в крови в 1,42 раза по сравнению с показателями здоровья доноров ( $p < 0,05$ ), что составило  $117 \pm 1,15\%$  [14, 15].

Уровень Ig G ( $r_c = 0,110$ ,  $p = 0,01$ ) был ниже у пациентов подгруппы С на  $70 \pm 0,02$  г/л, что характеризовало более низкую активность гуморального ответа у пациентов с тяжестью общего состояния 11-15 баллов по шкале АРАСНЕ II. Известно, что антитела класса G играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, активизируя комплемент и вызывая опсонизацию фагоцитарных клеток [10, 34]. Отмечалось достоверное повышение уровня ЦИК у больных колоректальным раком всех исследуемых подгрупп в 1,5 раза.

Больных с опухолевым поражением толстого кишечника характеризует достоверное снижение плазменной концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  в 2,3 раза ( $r_c = 0,118$ ,  $p = 0,01$ ) и уровня интерферонов ( $\alpha$ -INF,  $\gamma$ -INF) в 1,2 раза, а также достоверное превышение плазменного уровня провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  в 1,6 раза по сравнению с показателями здоровья доноров.

Иными словами, исходные нарушения цитокинового профиля онкоколопроктологических больных характеризуются дисбалансом про- и противовоспалительных его составляющих (таблица 2).

Таблица 2 - Цитокиновый профиль больных до проведения ИТ и хирургического лечения

в исследуемых подгруппах А, В и С (M±m)

| Показатели              | Контроль    | Подгруппа А | Подгруппа В | Подгруппа С |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| IL-4, pg/ml             | 2,5±0,35    | 2,9±0,24    | 3,0±0,25    | 2,4±0,19**  |
| IL-6, pg/ml             | 21,4±1,58   | 28,0±1,0*   | 27,6±0,14*  | 27±3,67*    |
| IL-8, pg/ml             | 23,4±1,80   | 25,2±0,53   | 26,7±0,24   | 27,3±0,83   |
| α-TNF, pg/ml            | 2,2±0,08    | 3,7±0,19*   | 3,6±0,07*   | 3,1±0,67*   |
| IL-1β, pg/ml            | 33,14±1,18  | 14±0,29*    | 15,4±1,06*  | 14±0,42*    |
| IL-1 ra, pg/ml          | 153,6±11,07 | 142,8±9,15  | 141±5,67    | 125,7±7,89  |
| α- INF, pg/ml           | 3,9±0,04    | 3,7±0,13*   | 3,3±0,05*   | 3,2±0,11*   |
| γ-INF, pg/ml            | 26,9±1,15   | 23,6±0,32*  | 22,8±0,24** | 21,7±0,55** |
| антитела к α-INF, pg/ml | 15±0,78     | 13,2±0,21*  | 12,2±0,20*  | 12,8±0,26   |

\* - p< 0,05 по сравнению с показателями здоровья доноров.

\*\* - p< 0,05 по сравнению с показателями больных подгруппы А.

Пропорционально нарастанию тяжести общего состояния наблюдалось изменение уровня цитокинов, как в сторону увеличения – IL-8 (на 8,3%) при  $r_c = 0,280$ ,  $p = 0,001$ , так и в сторону уменьшения плазменной концентрации цитокинов – γ-INF (на 19,3%), антител к α-INF (на 14,6%), рецепторного антагониста IL-1 (на 18,1%) в отношении показателей здоровья доноров, провоспалительных цитокинов α-TNF (на 12,7%) по сравнению с аналогичным показателям в подгруппе С. Установлено, что увеличение тяжести общего состояния приводило к незначительному достоверному снижению уровня α-INF на  $0,47±0,02$  пг/мл, плазменного уровня противовоспалительного цитокина IL-4 на  $0,47±0,06$  пг/мл.

На основании приведенных выше данных, можно говорить, что у больных колоректальным раком уже на этапе подготовки к оперативному лечению имеют место значительные нарушения иммунного статуса, затрагивающие не только клеточный, но и гуморальный иммунитет, а также дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов, позволяющие охарактеризовать данное состояние как проявление вторичного иммунодефицита [14,15].

При исследовании состояния перекисного окисления липидов, было обращено внимание, что уровень МДА у больных колоректальным раком превышает показатели здоровья доноров в 3,7 раза. Антиоксидантная защита у онкопроктологических больных также скомпрометирована исходно: снижен уровень супероксиддисмутазы (СОД) в среднем на 16,9%, ГПД на 19,1%, а уровень ОАА плазмы крови на 25% ниже показателей здоровья доноров ( $p<0,05$ ).

У больных колоректальным раком наблюдается положительная корреляционная связь ( $r_c = 0,199$ ,  $p = 0,003$ ) содержания маркера эндогенной интоксикации – малонового диальдегида (МДА) с тяжестью общего состояния больных по шкале АРАСНЕ II ( $p<0,05$ ). Выявлено достоверное увеличение концентрации МДА во всех трех подгруппах, более, чем в 3 раза до  $3±0,14$  мкмоль/мл в подгруппе С, что соответствует результатам полученным другими исследователями [16, 17, 18].

Уменьшение уровня глутатионпероксидазы (ГПД) на  $8,0±0,86$  ЕД/г Нб в подгруппе С в сравнении с показателями здоровья доноров обеспечило снижение антиоксидантного потенциал клетки у онкопроктологических больных. В подгруппе А при тяжести общего состояния 3-6 баллов по шкале АРАСНЕ II отмечалось снижение общей антиокислительной активности плазмы крови (ОАА) на 20% ( $p<0,05$ ), что составило  $1,2±0,03$  ммоль/л, в подгруппе С данный показатель был снижен на 26,6% ( $p<0,05$ ) (таблица 3).

Таблица 3 - Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных до оперативного лечения в зависимости от тяжести общего состояния (M±m)

| Показатели                | Контроль   | Подгруппа А | Подгруппа В | Подгруппа С |
|---------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| МДА, мкмоль/мл            | 0,8±0,03   | 2,6±0,09*   | 2,8±0,09*   | 3±0,14*     |
| СОД, ЕД/г Нб              | 1286±59,17 | 1072±3,53*  | 1062±2,29*  | 1054±5,58*  |
| ГПД, ЕД/г Нб              | 37,1±0,89  | 30,4±0,59*  | 29,4±0,33*  | 29,1±0,03*  |
| ОАА плазмы крови, ммоль/л | 1,5±0,03   | 1,2±0,03*   | 1,1±0,02**  | 1,1±0,02*   |

\* - p< 0,05 по сравнению с показателями здоровья доноров.

\*\* - p< 0,05 по сравнению с показателями больных подгруппы А.

Уровень супероксиддисмутазы (СОД), характеризующей иммунную недостаточность, снижался пропорционально повышению степени тяжести больных колоректальным раком (от

1072±3,53 в подгруппе А, до 1054±5,58 ЕД/г Нв в подгруппе С) и был достоверно ниже показателей здоровья доноров в 1,2 раза ( $p<0,05$ ).

Таким образом, нами подтверждено, что у больных колоректальным раком исходно, т.е. уже в предоперационном периоде, имеются нарушения как клеточного, так и гуморального иммунитета, сочетающиеся с угнетением неспецифической защиты, а нарушения цитокинового профиля у больных с этой патологией характеризуются дисбалансом про- и противовоспалительных составляющих. Полученные данные об изменении процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как нельзя лучше объясняют предрасположенность данной категории онкологических больных к повышению уровня эндотоксикоза в раннем послеоперационном периоде, несомненно влияющего на количество осложнений.

Снижение уровня супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы приводит к активации свободнорадикального окисления, накоплению активных соединений перекиси водорода, обеспечивает активность повреждающих ферментов на клеточные структуры и также обуславливает увеличение гнойно-воспалительных осложнений в раннем послеоперационном периоде. Выявленные нарушения, несомненно, должны быть откорректированы с целью сокращения времени пребывания больных в стационаре, снижения количества послеоперационных осложнений и уровня летальности.