

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНАЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОТЕРАПИЯ ЦИКЛОФЕРОНОМ У БОЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ЖЕЛУДКА

Кит О.И., Солдаткина Н.В., Ушакова Н.Д., Пайков А.Ю., Максимов А.Ю.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63, e-mail: rnioi@mail.ru

В интенсивном комплексном лечении 23 больных (основная группа), оперированных по поводу осложненных форм рака желудка, нами был применен метод экстракорпоральной противовоспалительной фармакографии (ЭФТ) циклофероном. В контрольную группы вошли больные, получавшие в послеоперационном периоде стандартную интенсивную терапию. Метод экстракорпоральной иммунофармакографии осуществляли путем обработки лейкомамы (3 млн клеток), полученной в процессе лейкоцитафереза, 500 мкг/мл циклоферона. В отличие от контрольной группы больных, где достоверных изменений со стороны показателей иммунного статуса на всех этапах исследования выявлено не было, в основной группе больных на фоне увеличения общего количества зрелых Т-лимфоцитов, выявили рост исходно низкого содержания Т-клеток-хелперов. Уровень CD4+ повысился с $19,2\pm 2,1\%$ до $31,1\pm 1,1\%$ ($p<0,01$). Под влиянием ЭФТ у больных основной группы регистрировали нарастание концентрации Т-лимфоцитов с киллерными свойствами с $6,6\pm 1,1\%$ до $9,2\pm 1,1\%$ ($p<0,01$), увеличение уровня В-клеток с $4,9\pm 2,2\%$ до $9,6\pm 1,1\%$ ($p<0,01$). При этом отмечали увеличение исходно невысокой концентрации ЦИК с $80,6\pm 6,9$ до $117,7\pm 5,1$ у.е. ($p<0,05$), что характеризовало улучшение антигенспецифических реакций иммунного ответа.

Ключевые слова: рак желудка, осложненное течение, иммунофармакография, циклоферон.

EXTRACORPORAL ANTI-INFLAMMATORY PHARMACOTHERAPY WITH CYCLOFERON IN PATIENTS WITH COMPLICATED FORMS OF GASTRIC CANCER

Kit O.I., Soldatkina N.V., Ushakova N.D., Paikov A.Y., Maximov A.Y.

FGBU "Rostov Cancer Research Institute," Health Ministry of Russia, 344037, Rostov-on-Don, ul. 14-Line, 63, e-mail: rnioi@mail.ru

We applied the method of extracorporeal anti-inflammatory pharmacotherapy (EPhT) with cycloferon in intensive complex treatment of complicated forms of gastric cancer. The control group included patients who received postoperatively standard intensive therapy. The method of extracorporeal immunopharmacotherapy was performed by processing leucomass (3 million cells) obtained during leucocytapheresis, 500 mcg/ml cycloferon. In contrast to the control group without significant changes in immune status at all stages of the study, we observed increase of total number of mature T-lymphocytes and growth of primary low concentration of T-cells-helpers in the study group. The CD4+ level increased from $19.2\pm 2.1\%$ to $31.1\pm 1.1\%$ ($p<0.01$). Under the influence of EPhT we registered increase of concentration of T-lymphocytes with killer properties from $6.6\pm 1.1\%$ to $9.2\pm 1.1\%$ ($p<0.01$), growth of B-cells level from $4.9\pm 2.2\%$ to $9.6\pm 1.1\%$ ($p<0.01$) in the study group. At the same time there was increase of primary low concentration of CIC from 80.6 ± 6.9 standard units to 117.7 ± 5.1 standard units ($p<0.05$), which characterized improvement of antigen-specific reactions of immune response.

Key words: gastric cancer, complicated course, immunopharmacotherapy, cikloferon.

Введение. Гнойно-воспалительные осложнения у онкологических больных развиваются на фоне угнетения иммунного гомеостаза. Иммунные дисфункции вносят значительный вклад в формирование синдрома эндогенной интоксикации и являются не только признаком его развития, но во многом обеспечивают его возникновение и последующее прогрессирование. Течение эндотоксического синдрома сопровождается

развитием вторичной иммунной недостаточности [1; 4; 5]. Исходя из этого очевидна необходимость применения у данной категории больных методов противовоспалительной иммунотерапии, способных эффективно корректировать развивающиеся иммунные нарушения.

Цель исследования. Улучшение результатов лечения больных осложненными формами рака желудка.

Материалы и методы исследования. В интенсивном комплексном лечении 23 больных (основная группа), оперированных по поводу осложненных форм рака желудка, нами был применен метод экстракорпоральной противовоспалительной фармакотерапии (ЭФТ) циклофероном. В контрольную группы вошли больные, получавшие в послеоперационном периоде стандартную интенсивную терапию.

Метод экстракорпоральной иммунофармакотерапии осуществляли путем обработки лейкомассы (3 млн клеток), полученной в процессе лейкоцитафереза, 500 мкг/мл циклоферона в течение 120 минут при температуре 37 °С с последующей реинфузией клеточной массы. Лейкоцитаферез проводили на сепараторах крови MCS 3+ фирмы «Гемонетикс» (США). Процедуры проводили в 1, 3 и 5-е сутки послеоперационного периода.

Наряду с общеклиническим обследованием проводили дополнительные лабораторные исследования. В целях изучения токсичности сред организма, процессов накопления, резорбции, динамики токсичности и направления движения молекул-маркеров эндогенной интоксикации исследовали концентрацию полипептидов средней молекулярной массы (МСМ) в перитонеальной жидкости, плазме крови (среда распределения), эритроцитах (естественная сорбция) и в моче (естественная элиминация) методом спектрофотометрии при длине волны 254 и 280 нм. Степень выраженности эндотоксикоза оценивали также по эффектам биологического воздействия эндотоксинов на клеточные мембраны (ПЭИ). Мембранотропное действие эндотоксинов устанавливали по такому показателю, как лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по Кальф-Калифу (1941). Для прямой характеристики распада клеток у больных раком желудка определяли содержание в сыворотке крови свободных нуклеиновых кислот, освобождающихся при распаде поверхностных мембран и мембран клеточных ядер. Исходя из патогенетических механизмов развития генерализованной воспалительной реакции было изучено сывороточное содержание IL-1 β , TNF- α , IL-8, IL-1Ra (иммуноферментный метод с использованием тест-систем «Цитокин», Санкт-Петербург). Учитывая множественность, а также синергизм и плейотропность участвующих в воспалительной реакции цитокинов, состояние их баланса оценивали по соотношению различных антагонистических медиаторов

иммунного ответа – IL-1Ra/TNF- α , продукция которых активируется опосредованно. Определяли количественное содержание различных субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+) (метод проточной цитофлюорометрии, «Coulter Epics XL/XL-MCL», «Beckman Coulter», США); концентрацию иммуноглобулинов (Ig) классов A, M, G (метод радиальной иммунодиффузии по G. Mancini и соавт., 1965); циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК); функциональную активность гранулоцитов в спонтанном и стимулированном тестах по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ).

Обследование проводили до операции, в 1, 3, 5 и 7-е сутки после произведенного хирургического вмешательства. Учитывая инертность изменений показателей специфического иммунитета, эти исследования осуществляли в 1 и 7-е сутки наблюдения.

Полученные результаты были обработаны вариационно-статистическим методом по t-критерию Стьюдента. Рассчитывали среднее арифметическое, среднеквадратическое отклонение, значение t-критерия Стьюдента (t) и уровень значимости различий (p). При небольшом числе наблюдений в группах проверка статистических гипотез осуществлялась на основе непараметрических методов (Манна–Уитни, Колмогорова–Смирнова). Различие считали статистически достоверным, если уровень значимости был $p < 0,05$. Статистическая обработка результатов исследований выполнена на персональном компьютере с использованием пакета статистических прикладных программ Microsoft Statistica 6.0 и применением специальных программ непараметрической статистики, определяющих достоверность различий малых групп данных.

Результаты исследования показали, что включение в комплекс послеоперационного периода ЭФТ способствовало более раннему и выраженному снижению уровня цитокинемии. В отличие от больных контрольной группы, в основной группе исследования отмечали более прогрессивную динамику снижения уровня IL-8. К 3 суткам послеоперационного периода величина этого показателя уменьшилась с $551,4 \pm 86,3$ пг/л до $307,1 \pm 77,2$ пг/л (в контрольной группе – с $553,4 \pm 87,1$ пг/л до $478,3 \pm 67,1$ пг/л, $p < 0,01$). Существенно ниже концентрация IL-8 в сыворотке крови по сравнению с результатами у больных контрольной группы была к 5 и 7 суткам послеоперационного периода ($p < 0,05$).

Под влиянием экстракорпоральной противовоспалительной фармакотерапии выявили более интенсивную динамику основных триггеров системного воспаления – TNF- α и IL-1 β . Снижение их концентрации у больных основной группы наблюдали к 5 суткам исследования ($p < 0,05$), тогда как в контроле уменьшение их значений регистрировали только к 7 суткам исследования. При этом сывороточное содержание TNF- α и IL-1 β у больных, в комплексе лечения которым применяли ЭФТ, было значительно ниже по

сравнению с показателями контрольной группы. В основной группе уровень TNF- α уменьшился с $130,0 \pm 94,2$ пг/л до $81,6 \pm 16,6$ пг/л (в контроле увеличился с $134,2 \pm 98,0$ пг/л до $161,4 \pm 21,1$ пг/л, $p < 0,05$), а IL-1 β с $482,4 \pm 73,2$ пг/л до $105,1 \pm 22,9$ пг/л (в контроле – с $386,0 \pm 83,2$ пг/л до $222,1 \pm 32,1$ пг/л, $p < 0,01$).

Проведение ЭФТ способствовало улучшению состояния цитокинового баланса. Индекс соотношения IL-1Ra/TNF- α уменьшился до $12,58 \pm 2,30$ ед. ($p < 0,05$), тогда как в контрольной группе значения этого показателя оставались высокими и отличий от исходных величин не имели.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном противовоспалительном влиянии ЭФТ, механизм которого, по данным литературы, реализуется путем активации циклофероном провоспалительных медиаторов, в частности IL-1 β , обладающего стимулирующим воздействием на механизмы противоинфекционной защиты организма [2; 3].

При включении в комплекс послеоперационного периода больным осложненными формами рака желудка ЭФТ наблюдали более раннюю и выраженную динамику снижения токсичности внутренних сред организма по сравнению с больными, которым проводили стандартное интенсивное лечение (табл. 1).

Таблица 1 – Динамика показателей эндотоксического синдрома после ЭФТ в основной (n_1) и контрольной группах (n_2)

Показатель	Группы больных	Этап исследования (M \pm m)			
		1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки
МСМ пл., у. е.	$n_1=16$	$410,1 \pm 9,7$	$395,2 \pm 19,3$	$310,3 \pm 10,2^{1,2,4}$	$265,2 \pm 19,6^{1,2,3,4}$
	$n_2=14$	$411,2 \pm 11,5$	$419,1 \pm 16,1$	$379,5 \pm 16,5$	$333,5 \pm 12,9^1$
МСМ эр., у. е.	$n_1=15$	$3899,4 \pm 32,1$	$3845,9 \pm 22,2$	$2789,4 \pm 39,9^{1,2,4}$	$2447,1 \pm 22,1^{1,2,3,4}$
	$n_2=14$	$3882,5 \pm 27,4$	$3855,4 \pm 21,6$	$3162,7 \pm 20,7^{1,2}$	$2588,2 \pm 25,8^1$
МСМ мочи, у.е.	$n_1=16$	$419,6 \pm 35,9$	$476,2 \pm 43,1$	$720,4 \pm 49,1^{1,2,4}$	$449,5 \pm 32,3^{2,3,4}$
	$n_2=13$	$420,1 \pm 40,3$	$460,2 \pm 36,9$	$560,7 \pm 41,1^{1,2}$	$530,4 \pm 35,2^{1,2,3}$
МСМ пер. экс., у. е.	$n_1=16$	$178,9 \pm 11,1$	$344,6 \pm 11,2^1$	$356,9 \pm 10,9^{1,4}$	$316,8 \pm 12,6^{1,2,3,4}$
	$n_2=14$	$187,6 \pm 14,3$	$365,1 \pm 17,7^1$	$388,0 \pm 16,1^1$	$408,0 \pm 11,2^1$
ПЭИ, %	$n_1=16$	$60,5 \pm 2,1$	$61,0 \pm 1,7$	$56,1 \pm 2,2^{2,4}$	$44,2 \pm 1,1^{1,2,3,4}$
	$n_2=14$	$61,4 \pm 1,2$	$62,3 \pm 1,3$	$59,0 \pm 1,5$	$46,8 \pm 1,0^{1,2,3}$

ЛИИ, у. е.	n ₁ =14	12,9±2,1	11,8±2,2	9,4±1,1 ¹	7,2±0,7 ^{1,2,4}
	n ₂ =12	13,6±1,1	12,8±0,9	13,6±0,8	9,2±0,7 ^{1,2,3}
ВЭГ, мкМ/л	n ₁ =13	3,44±0,55	2,79±0,32	2,20±0,23 ¹	2,00±0,32 ^{1,2}
	n ₂ =12	3,65±0,60	2,89±0,31	2,24±0,22 ^{2,3}	2,02±0,27 ^{1,2}
НК, мкг/мл	n ₁ =13	145,5±1,4	142,4±1,4	119,1±2,9 ^{1,2,4}	82,3±2,1 ^{1,2,3,4}
	n ₂ =11	147,3±1,3	145,8±2,1	129,1±2,4 ^{1,2}	95,9±1,7 ^{1,2,3}

¹ – p<0,01–0,05 в сравнении с 1 сутками;

² – p<0,01–0,05 в сравнении с 3 сутками;

³ – p<0,01–0,05 в сравнении с 5 сутками;

⁴ – p<0,01–0,05 в сравнении с контрольной группой.

Как следует из таблицы 1, под влиянием ЭФТ уже к 5 суткам послеоперационного периода содержание МСМ в плазме крови у больных основной группы уменьшилось с 410,1±9,7 у.е. до 310,3±10,2 у.е. (p<0,01) в отличие от контрольной группы, где динамику этого показателя регистрировали лишь к 7 суткам исследования. При этом более значительное снижение к 5 суткам МСМ в эритроцитах в основной группе – 2789,4±39,9 у.е., в контрольной – 3162,7±20,7 у.е.; p<0,01) и перитонеальном экссудате (в основной группе – 356,9±10,9 у.е., в контрольной – 388,0±16,1 у.е.; p<0,01), а также более выраженное увеличение уровня токсических метаболитов в моче (в основной группе – 720,4±49,1 у.е., в контрольной – 560,7±41,1 у.е.; p<0,05) свидетельствовало об интенсивности снижения токсичности внутренних сред организма под влиянием проводимой иммунотерапии. К 7 суткам послеоперационного периода у больных основной группы значения этих показателей также достигали более низких величин по сравнению с контрольной группой исследования (p<0,05).

На более адекватное купирование степени выраженности эндотоксического синдрома в группе больных, в комплекс лечения которым была включена экстракорпоральная иммунотерапия, указывала также интенсивность динамики улучшения показателей эндогенной интоксикации, ЛИИ и состояния клеточной деструкции тканей. Значения всех этих показателей к 7 суткам послеоперационного периода были значительно ниже по сравнению с результатами, полученными у больных контрольной группы (p<0,05).

При анализе данных иммунологического исследования выявили, что после окончания программы ЭФТ улучшалось функциональное состояние неспецифического звена иммуногемеостаза (табл. 2).

Таблица 2 – Динамика функциональной активности нейтрофилов после ЭИФТ в основной (n₁) и контрольной (n₂) группах

Показатель	Группы больных	Значения показателей на этапах исследования (M±m)	
		1 сутки	7 сутки
НСТ-тест нейтр. спонт., у. е.	n ₁ =16	101,1±8,2	209,6±7,1 ¹
	n ₂ =14	95,1±9,6	113,1±10,1
НСТ-тест нейтр. стим., у. е.	n ₁ =16	95,3±11,2	147,6±8,1 ¹
	n ₂ =14	93,7±17,9	101,6±9,5

¹ – p<0,01–0,05 в сравнении с 1 сутками.

В отличие от больных контрольной группы, в основной группе исследования наблюдали повышение показателей как со стороны спонтанного, так и стимулированного НСТ-тестов нейтрофилов, что характеризовало усиление фагоцитарных реакций, повышение бактерицидной способности нейтрофилов.

В отличие от контрольной группы больных, где достоверных изменений со стороны показателей иммунного статуса на всех этапах исследования выявлено не было, в основной группе больных на фоне увеличения общего количества зрелых Т-лимфоцитов выявили рост исходно низкого содержания Т-клеток-хелперов. Уровень CD4+ повысился с 19,2±2,1 до 31,1±1,1% (p<0,01). Под влиянием ЭФТ у больных основной группы регистрировали нарастание концентрации Т-лимфоцитов с киллерными свойствами с 6,6±1,1 до 9,2±1,1% (p<0,01), увеличение уровня В-клеток с 4,9±2,2 до 9,6±1,1% (p<0,01). При этом отмечали увеличение исходно невысокой концентрации ЦИК с 80,6±6,9 у.е. до 117,7±5,1 у.е. (p<0,05), что характеризовало улучшение антигенспецифических реакций иммунного ответа.

Обсуждение и выводы. Представленные выше данные демонстрируют положительное влияние ЭФТ циклофероном на течение эндотоксикоза у больных, оперированных по поводу осложненных форм рака желудка.

Представленные нами результаты отражают выраженность иммуномодулирующего влияния проводимой иммунотерапии. Это характеризуется улучшением состояния цитокинового баланса, повышением функциональной активности фагоцитов, индукцией иммунного ответа по Th1/Th2 смешанному типу и, как следствие, снижение активности воспаления, регресс выраженности эндотоксикоза. Вышеизложенное отражает адекватность иммуномодулирующих эффектов ЭФТ циклофероном патогенетической структуре

иммунных дисфункций, что обосновывает показания к его применению в комплексе интенсивного лечения больных осложненными формами рака желудка.

Список литературы

1. Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса. – СПб., – 2002. – 48 с.
2. Козлов В.К. Некоторые аспекты проблемы цитокинов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 5–8.
3. Останин А.А., Зайнутдинов Ю.Г., Стрельцова Е.И. и др. Хирургический сепсис. Сообщение 2. Эффективность иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 // Вестник хирургии. – 2002. – Т. 161. – № 4. – С. 79–84.
4. Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. и др. Изменение цитокинового баланса при развитии и утяжелении системной воспалительной реакции у больных с хирургической инфекцией // Мед. иммунол. – 2003. – Т. 5. – № 3–4. – С. 438–439.
5. Останин А.А., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. и др. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 38–44.
6. Фрейдлин И.С. Цитокины и межклеточные контакты в противомикробной защите организма // Биология. – 1996. – № 3. – С. 235–237.

Рецензенты:

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.

Николаева Н.В., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, врач-гематолог отделения гематологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», г. Ростов-на-Дону.