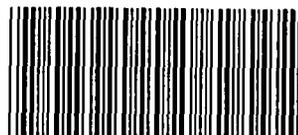


На правах рукописи



4855304

МОРГУН ПАВЕЛ ПАВЛОВИЧ

**ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ
ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-2 В КОРРЕКЦИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО
ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА
У ОНКОУРОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

- 6 ОКТ 2011

Ростов-на-Дону - 2011

РАБОТА ВЫПОЛНЕНА В ФЕДЕРАЛЬНОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ БЮДЖЕТНОМ
УЧРЕЖДЕНИИ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ
ИНСТИТУТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РФ
(директор института – д.м.н., профессор **О. И. Кит**)

Научный руководитель: доктор медицинских наук,
профессор Кит Олег Иванович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук,
профессор Задерин Виктор Петрович

доктор медицинских наук,
профессор Красулин Виктор Васильевич

Ведущая организация: Волгоградский государственный
медицинский университет

Защита диссертации состоится «21» 10 2011 г. в 13 часов на засе-
дании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д.208.083.01
при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ростовский науч-
но-исследовательский онкологический институт» Минздравсоцразвития РФ
(344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Ростовский
научно-исследовательский онкологический институт» Минздравсоцразвития
РФ.

Автореферат разослан «20» 09 2011 г.

Ученый секретарь совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций,
д.м.н., профессор



Л. Ю. Голотина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Проблема гнойно-септических осложнений у больных хирургического профиля остается в числе самых актуальных в современной медицине, несмотря на использование новых медицинских технологий, внедрение в клиническую практику современных высокоэффективных антибактериальных и иммуностроительных препаратов. Развитие генерализованного воспаления в хирургической практике достигает 400-500 тысяч случаев в год, а летальность этих больных даже в ведущих отечественных и зарубежных клинических центрах - 30-50 % (Ерехин И. А., Гельфанд Б. Р., 2006; Савельев В. С., Гельфанд Б. Р., 2011; Vincent J. L., Sark Y., Sprung C.L. et al., 2006; Delinger J. F. et al., 2008).

В настоящее время известно, что развитие онкологического процесса сопровождается нарушениями состояния адаптивного иммунитета, которые углубляются в условиях проведения обширных хирургических вмешательств, особенно у людей пожилого и старческого возраста, а также лиц, имеющих тяжелую сопутствующую соматическую патологию. Иммунологические дисфункции вносят значительный вклад в патогенез генерализованного воспаления и являются не только признаком его развития, но во многом обеспечивают его возникновение и последующее прогрессирование (Vasselon T., Detmers P.A., 2002; Angstwurm M. W. et al., 2007). Исходя из этого, очевидна необходимость применения у данной категории больных методов иммунотерапии, способных эффективно корректировать развивающиеся иммунологические дисфункции. В настоящее время доказано, что наиболее мощными средствами иммунокоррекции являются цитокиновые препараты, в частности рекомбинантный интерлейкин-2. Многогранность биологической активности интерлейкин-2 позволяет при его применении рассчитывать не только на коррекцию проявлений иммунной недостаточности, но и на оптимизацию функционирования всей системы иммунитета и адекватному её взаимодействию с другими системами организма (Кетлинский С.А., 2007; Козлов В.К., 2011; Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю. 2011; Kubota T. et al., 2009).

По данным современной литературы, наиболее перспективным направлением иммунотерапии является экстракорпоральная иммунофармакотерапия на аутологичных клетках моноклонально-моноцитарного ряда (Костюченко А. Л., 2000). Данный метод имеет ряд преимуществ:

- экстракорпоральное использование лекарственных веществ позволяет применять их в концентрациях, намного более низких, чем терапевтические;
- клетки во время обработки препаратом *in vitro* находятся вне контроля факторов, образующихся в организме больного и препятствующих активации клеток *in vivo*;
- индуцированные *in vitro* клетки действуют строго целенаправленно и обеспечивают доставку медиаторов к физиологически предназначенным клеткам-акцепторам.

Исходя из этого нами был разработан и внедрен в клиническую практику метод экстракорпоральной иммунофармакотерапии рекомбинантным интерлейкином-2.

Цель исследования. Повышение эффективности лечения онкоурологических больных с осложненным течением послеоперационного периода путем включения в комплекс интенсивного лечения экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить содержание провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IL-8) и противовоспалительного (IL-1Ra) цитокинов, иммунного статуса у онкоурологических больных с осложненным течением послеоперационного периода.
2. Изучить изменения лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), молекул средней молекулярной массы (МСМ) и β_2 - микроглобулина (β_2 -МГ) в крови и моче в процессе развития эндотоксикоза.

3. Исследовать состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у онкоурологических больных, послеоперационный период которых осложнился развитием гнойно-септического процесса.

4. Определить влияние экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 на характер течения генерализованного воспаления.

5. Оценить влияние экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 на характер течения адаптационных реакций организма.

6. Оценить клиническую эффективность применения экстракорпоральной иммунотерапии при лечении гнойно-септических послеоперационных осложнений у онкоурологических больных.

Научная новизна исследования

1. Впервые у онкоурологических больных, послеоперационный период которых осложнился гнойно-септическими осложнениями, проведено комплексное исследование изменений иммунного статуса, характера течения окислительно-восстановительных и адаптационных реакций организма.

2. Формирование генерализованной воспалительной реакции протекает на фоне повышения сывороточного содержания как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, нарушением цитокинового баланса, снижением фагоцитарной активности нейтрофилов, формированием вторичной Т-клеточной недостаточности с преимущественным дефицитом Т-лимфоцитов с хелперными свойствами, нарушением процессов антигенспецифического иммунного ответа.

3. Доказана важная роль окислительного стресса в развитии послеоперационных гнойно-септических осложнений.

4. Разработан и внедрен в клиническую практику метод экстракорпоральной иммунофармакотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 (приоритетная справка №32010127731/14(039431) от 05.07.2010). Доказана адекватность его корригирующих эффектов патогенетической структуре им-

мунных дисфункций, положительное влияние на течение окислительно-восстановительных и адаптационных реакций организма.

Практическая значимость исследования

Получены новые данные о патогенезе развития послеоперационных гнойно-септических осложнений у онкоурологических больных. Доказан существенный вклад иммунных дисфункций и окислительного стресса в развитии генерализованной воспалительной реакции.

Обосновано применение в комплексе лечения послеоперационных гнойно-септических осложнений у онкоурологических больных экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2.

Применение в клинической практике экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 позволило уменьшить частоту перехода заболевания в более тяжелые стадии на $17,6 \pm 2,5$ %, сократить продолжительность периода интенсивного лечения – на $4,6 \pm 0,5$ суток, снизить летальность на $4,6$ % ($P < 0,05$).

Внедрение результатов исследования в практику

Метод экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 у онкоурологических больных, послеоперационный период которых осложнился развитием гнойно-септических осложнений, внедрен и применяется в клинической практике Ростовского научно-исследовательского онкологического института, урологического отделения БСМП № 2 г. Ростова-на-Дону.

Основное положение, выносимое на защиту

Развитие послеоперационных гнойно-септических осложнений у онкоурологических больных сопровождается углублением исходных нарушений иммунологического статуса, окислительного стресса, срывом адаптационных реакций организма. Включение в комплекс интенсивного лечения экстракорпоральной иммунотерапии ронколейкином оказывает положительное влия-

ние на характер течения генерализованного воспаления, улучшает исход лечения госпитального периода этих больных.

Апробация работы

Апробация диссертации состоялась 2011 г. на заседании Ученого Совета при Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 научных работы, из них – 2 в журналах, рецензируемых ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы характеристики клинического материала, методов лечения и исследований, 3 глав собственных исследований с изложением и обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 118 отечественных и 77 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 5 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика материала, методов лечения и исследования

Ретроспективный анализ историй болезни 410 больных, оперированных по поводу онкоурологических заболеваний в период с 2005 по 2010 гг. показал, что у 87 из них (21,2 %) послеоперационный период сопровождался развитием гнойно-септических осложнений. Эти 87 больных (мужчины в возрасте от 52 до 87 лет) явились объектом настоящего исследования и были разделены на основную (1) и контрольную (2) группы.

В основную группу вошли 55 человек, в комплекс интенсивного лечения послеоперационного периода которым был включен метод экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ) с использованием рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкин). Остальные 32 больных, получавших стандартное базисное лечение, включающее антибактериальную, дезинтоксикационную, посиндромную терапию, составили контрольную группу.

Существенных межгрупповых отличий по возрасту, характеру и тяжести сопутствующей соматической патологии, нозологическим формам и стадиям онкологического процесса в группах сравнения не было.

Распределение больных в группах исследования по нозологии и стадиям онкологического процесса было однородным. Рак простаты у больных контрольной группы был диагностирован в 20 (62,6 %) из 32 случаев. У 7 больных (21,9 %) - T1N0M0, 7 (21,9 %) – T2N0M0, 6 (18,7 %) – T3N0M0. Диагноз рак мочевого пузыря был установлен в 2 случаях (6,2 %). У 1 больного (3,1 %) – T2AN0M0 и у 1 (3,1 %) – T3AN0M0. Количество больных раком почки в контроле составило 10 (31,3 %). Из них у 2 больных (6,3 %) – T2N0M0, 6 (18,7 %) – T1N1M0, 2 – T1N2M0. В основной группе исследования из 55 больных в 32 случаях был установлен диагноз рак простаты: T1N0M0 – 7 (12,7 %) , T2N0M0 – 9 (16,4 %), T3N0M0 – 11 (20,0 %). Количество больных раком мочевого пузыря составило 6 человек: 3 (5, 4 %) – T2AN0M0, другие 3 (5,4 %) – T3AN0M0. Рак почки в основной группе выявили у 17 больных (31,0%): T2N0M0 – 8 (14,6%), T1N1M0 – 8 (14,6 %) и 1 (1,8 %) – T2N1M1.

У всех больных в группах исследования течение послеоперационного периода сопровождалось развитием генерализованного воспалительного процесса с формированием клинико-лабораторной картины эндотоксического синдрома. У 74 (85,1%) из 87 анализируемых в настоящем исследовании больных развитие генерализованной уроинфекции регистрировали без выявленного очага воспаления. У этих больных развитие генерализованной воспалительной реакции диагностировали на фоне кровотечения, ДВС-синдрома, проведения реконструктивно-пластических операций на мочевом пузыре и кишечнике, длительного нахождения в мочевых путях дренирующих катетеров. В 9 случаях (10,3 %) регистрировали развитие мочевого перитонита, у 4 больных (4,6 %) - гнойно-воспалительного процесса в почках.

На основании данных клинико-лабораторного исследования с учетом современных критериев диагностики у 35 (40,2%) из 87 больных был установлен диагноз сепсиса. Среди возбудителей ведущее место занимали грамотрицатель-

ные бактерии: *E.coli* – 32%, *Pseudomonas aeruginosa* – 27%, *Enterobacter spp.* – 11%, *Enterobacter agglomerans* – 10%, *Klebsiella sp.* – 9%, *Proteus spp.* – 7% и др. В ряде случаев была выявлена грамположительная флора: *Staphylococcus aureus* – 4%, *Staphylococcus epidermidis* – 3%. У 22% больных наблюдали микробные ассоциации. Положительные результаты бактериологического исследования крови получены у 24 (68,7%) из 35 больных. У 26 (29,9%) из 87 больных течение генерализованного воспалительного процесса сопровождалось формированием моно- и полиорганных дисфункций, из них в 6 случаях наблюдали развитие полиорганной недостаточности (ПОН). Степень выраженности органных дисфункций по шкале SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) составляла от 4 до 18 баллов.

Повторные хирургические вмешательства по поводу развития гнойно-воспалительных осложнений были произведены 11 (12,6 %) из 87 больных. Из них 9 больным (81,8 %), течение послеоперационного периода которых осложнилось мочевым перитонитом была произведена ревизия и дренирование малого таза. В 2 случаях (18,2 %) формирование гнойно-деструктивного процесса в почке потребовало проведения нефрэктомии.

Все больные в обеих группах получали стандартное одинаковое базовое лечение, включающее антибактериальную, дезинтоксикационную, симптоматическую терапию. При показаниях в комплекс интенсивной терапии были включены методы экстракорпоральной детоксикации организма. Для улучшения результатов лечения нами был разработан и внедрен в клиническую практику метод экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ) ронколейкином (основная группа). Выбор препарата рекомбинантного интерлейкина-2 был обусловлен его иммуностропным эффектом. По данным литературы известно, что его применение в раннем послеоперационном периоде у онкологических больных характеризуется детоксикационным и иммунокорректирующим действием и позволяет в 3 раза сократить частоту хирургических инфекций (Попович А. М., 2005).

ЭИФТ осуществляли посредством инкубации аутолейкомассы (3 млн. клеток), полученной в процессе лейкоцитафереза, 300 тыс. М ЕД ронколейкина в течение 90 минут при температуре 37°C с последующей реинфузией. Доза ронколейкина была выбрана с учетом данных литературы, свидетельствующих об эффективности воздействия данного иммунного препарата на состояние адаптивного иммунитета (Серебряная Н. Б., Егорова В. Н., 2007). Лейкоцит-аферез проводили на сепараторах крови MCS+ фирмы «Гемонетикс» (США). Количество проводимых процедур – 3-5 в зависимости от характера клинического течения генерализованного воспаления с интервалом 24 часа.

Для решения поставленных задач наряду с общеклиническим обследованием проводили дополнительные лабораторные и инструментальные исследования. Изучали сывороточное содержание IL-1 β , TNF- α , IL-8, а также рецепторного антагониста IL-1 - IL1Ra иммуноферментным методом с использованием тест-систем «Цитокин» (Санкт-Петербург). Определяли количественное содержание различных субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+). Иммунологические исследования проводили методом проточной цитофлюорометрии на аппарате «Coulter Epics XL/XL-MCL» и «Beckman Coulter» (США) (1978). Сывороточное содержание иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, G исследовали методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini и соавт. (1965); циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – по V. Hazkova и соавт. (1978). Функциональную активность гранулоцитов изучали в спонтанном и стимулированном тестах по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ). О развитии эндотоксемии судили по лейкоцитарному индексу интоксикации (ЛИИ), который рассчитывали по формуле Я. Я. Кальф-Калифа (1941). Содержание β_2 МГ изучали иммуноферментным методом тест-системами «Pharma Diagnostics AB» (Швеция). Также исследовали концентрацию пептидов средней молекулярной массы (МСМ) в плазме крови и в моче методом спектрофотометрии при длине волны 254 и 280 нм. Степень выраженности эндотоксикоза также оценивали по эффектам биологического воздейст-

вия эндотоксинов на клеточные мембраны (показателю эндогенной интоксикации) и транспортной функции сывороточного альбумина по методу И. А. Мельник и соавт. (1985).

Исследовали содержание факторов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и гемолизатах эритроцитов изучали по методу М. Д. Стальной и Т. Д. Горишвили (1977). Суммарную пероксидантную активность (СПА) крови определяли модифицированным методом по В. В. Внукову (1979). О состоянии антиоксидантной защиты организма судили по активности каталазы (КА) в плазме крови и гемолизатах эритроцитов, а также активности супероксидисмутазы (СОД). Активность каталазы (КА) в гемолизатах эритроцитов исследовали по методу Luck (1963). Для определения активности каталазы в плазме крови использовали метод М. А. Королюк и соавт. (1988), который основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена окрашенный комплекс. Активность супероксидисмутазы (СОД) определяли по методу С. С. Wineterburn et al. (1975).

Обследование проводили в 1, 7, 14, 21 сутки после диагностирования гнойно-септических осложнений. Учитывая инертность изменений показателей специфического иммунитета, эти исследования осуществляли в 1, 14 и 21 сутки исследования.

Статистическую обработку материала проводили с использованием компьютерной программы «*Statistica 6.0*». Достоверность различий между двумя выборками, имеющими нормальное распределение значений, проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Полученные результаты были обработаны вариационно-статистическим методом по *t*-критерию Стьюдента. Рассчитывали среднюю арифметическую (\bar{X}), среднее квадратическое отклонение (SD), значение *t*-критерия Стьюдента (t) и уровень значимости различий (p). Сравнение двух выборочных долей вариант (процентов), не имеющих нормальное распределение, проводили с использованием ϕ -преобразования Фишера (Гублер Е. В. и соавт.; 1973). Различие считалось статистически достоверным при вероятности безошибочного прогноза не менее 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты исследований

Развитие системного воспалительного процесса у исследуемых больных сопровождалось значительным увеличением концентраций провоспалительных медиаторов – IL-1 β , TNF- α , IL-8 ($P < 0,05$), что характеризовало остроту воспаления. Обращало на себя внимание более высокое содержание IL-8 у больных с документально подтвержденными очагами гнойного воспалительного процесса ($P < 0,05$). Концентрация IL-8 у этих больных достигала 690-980 пг/л по сравнению со значениями этого показателя у здоровых людей ($23,6 \pm 6$ пг/л, $P < 0,05$) и снижалась уже на следующие сутки после хирургической санации очага гнойного воспаления. Это подтверждает данные других авторов о патогенетической значимости продукции IL-8 в развитии гнойного воспаления (Аль-Шукри С.Х. и соавт., 2000). Выявлено повышение концентрации противовоспалительного медиатора – IL-1Ra до $2402,1 \pm 29,3$ пг/л, что почти в 11 раз превышает нормальные значения этого показателя ($P < 0,05$). Это указывает на смещение цитокинового баланса в сторону избыточной продукции противовоспалительных цитокинов.

Более выраженное воспаление способствовало развитию вторичной иммунодепрессии (таблица 1). Анализ показателей иммунного статуса в исходном состоянии у исследуемых больных выявил наличие относительной лейкопении, снижение значений относительно нормальных показателей стимулированного НСТ-теста (в контрольной группе до $129,6 \pm 8,1$ у. е., в основной – до $113,7 \pm 10,16 \pm 4,2$ у. е.; $P < 0,05$), истощение пула Т-лимфоцитов хелперов при приросте супрессорных клеток на 7,3 % ($P < 0,05$), отсутствие роста концентрации иммуноглобулинов, характерного для развития воспалительного процесса, увеличение продукции относительно здоровых людей ЦИК (у больных контрольной группы до $137,3 \pm 9,8$ у. е., основной – до $127,2 \pm 7,9$ у. е.; $P < 0,05$). Эти изменения указывали на угнетение функциональной активности нейтрофилов, развитие вторичной иммунной недостаточности. Это свиде-

тельствует о том, что нарушения со стороны иммунного статуса организма при формировании гнойно-септических осложнений носят общепатологический характер и не зависят от нозологической формы заболевания.

Таблица 1

Показатели иммунного статуса (M±m)

Показатели	Здоровые люди (M±m) n=20	Значения показателей по группам больных	
		Контрольная (n=12)	Основная (n=11)
Лейкоциты, 10^9 /л	6-8	9,6±2,1	8,3±1,9
CD3+, %	72±7	56,3±3,1 ¹	53,1±2,2 ¹
CD4+, %	39±5	26,6±3,11 ¹	27,3±3,1 ¹
CD8+, %	23±4	36,3±3,4 ¹	35,6±3,5 ¹
CD4+/CD8+, ед.	1,7±4,5	0,7±0,1 ¹	0,8±0,1 ¹
CD16+, %	12±6	10,2±2,6	9,5±1,1
CD20+, %	9±6	8,3±3,1	8,5±3,2
Ig A, г/л	1,4±0,3	2,32±0,32 ¹	2,28±0,32
Ig M, г/л	0,9±0,3	0,87±0,32	0,79±0,23
Ig G, г/л	11,6±3,6	10,61±4,92	8,31±1,72
ЦИК, у. е.	60±10	137,3±9,8 ¹	127,2±7,9
НСТ-тест нейтр. спонт., у. е.	99±27	92,6±4,2	89,1±4,6
НСТ-тест нейтр. стим., у. е.	198±54	129,6±8,1 ¹	113,7±10,1 ¹

Примечание: ¹ - P<0,01-0,05 в сравнении с контролем (здоровые люди)

Представленные выше данные свидетельствуют, что развитие в послеоперационном периоде у онкоурологических больных генерализованного воспалительного процесса сопровождается повышением продукции как провоспалительных (IL-1β, TNF-α, IL-8), так и противовоспалительного (IL-1Ra) цитокинов, смещением цитокинового баланса в сторону противовоспалительных реакций, развитием вторичной иммунодепрессии.

В процессе проведения комплекса базисного интенсивного лечения (контрольная группа) уровень цитокинемии снижался. К 14 суткам выявили уменьшение IL-1β с 474,1±70,8 пг/л до 223,7±33,1 пг/л (P<0,05), а к 21 суткам – IL-1β с 474,1±70,8 пг/л до 109,4±21,7 пг/л и IL-8 с 286,6±83,2 пг/л до 122,1±32,1 пг/л (P<0,05). Тем не менее, концентрации этих провоспалительных меди-

торов оставались высокими и значительно превышали содержание у здоровых людей ($P < 0,05$).

К 14 и 21 суткам исследования повышалась функциональная активность нейтрофилов. Отмечали увеличение стимулированного НСТ-теста нейтрофилов соответственно до $179,3 \pm 8,1$ у. е. ($P < 0,05$), спонтанного НСТ-теста до $104,1 \pm 3,1$ у. е. ($P < 0,05$).

Со стороны показателей адаптивного иммунитета сохранялась выраженность иммунных нарушений. Оставался низким относительно нормальных значений уровень всех пулов Т- и В- лимфоцитов ($P < 0,05$). Существенных изменений со стороны показателей гуморального иммунитета не регистрировали.

Включение в патологический процесс патофизиологических механизмов системного воспаления способствовало развитию эндотоксемии. Уровень ЛИИ был значительно увеличен и достигал у больных контрольной группы $9,12 \pm 1,24$ у. е., основной – $11,24 \pm 1,43$ у. е., что более чем в 7 раз превышало его нормальные показатели ($P < 0,05$). Одновременно наблюдали повышение концентрации в крови как низкомолекулярной фракции, так и среднемолекулярных пептидов. Содержание МСМ крови у анализируемых больных было более высоким, чем у здоровых лиц и достигало у больных контрольной группы $0,422 \pm 0,032$ у. е., основной – $0,370 \pm 0,035$ у. е. ($P < 0,05$). Также диагностировали высокую концентрацию МСМ в моче. Уровень этого показателя у больных контрольной группы был $0,628 \pm 0,041$ у. е., основной – $0,590 \pm 0,042$ у. е., что значительно превышало нормальные значения ($P < 0,05$).

О высоком уровне эндотоксемии судили также по содержанию в крови и моче β_2 -микроглобулина. При анализе изменений этого показателя установлено, что у исследуемых в настоящей работе больных концентрация β_2 -микроглобулина в крови более чем в 5 раз, а в моче – более чем в 7 раз превышала нормальные значения этого показателя ($P < 0,05$). Высокое содержание данного пептида в крови и моче свидетельствовало о существенной роли нарушений функции почек в механизмах развития эндотоксикоза.

Под влиянием комплекса базисного интенсивного лечения выраженность эндогенной интоксикации снижалась. К 14 суткам лечения регистрировали уменьшение ЛИИ до $5,08 \pm 0,61$ у. е., МСМ крови – до $0,306 \pm 0,021$ у. е., МСМ мочи – до $0,751 \pm 0,043$ у. е., β_2 -МГ крови – до $9,76 \pm 0,76$ мг/л и мочи – до $1899,3 \pm 100,4$ мкг/л у. е. ($P < 0,05$). К 21 суткам наблюдали дальнейшее снижение ЛИИ, МСМ, β_2 -МГ крови и мочи ($P < 0,05$). Однако следует отметить, что несмотря на регресс степени выраженности эндотоксического синдрома под воздействием проводимого базисного интенсивного лечения, их значения по сравнению со здоровыми людьми оставались значительно увеличенными ($P < 0,05$). Уровни ЛИИ и β_2 -МГ были повышены более чем в 5 раз, β_2 -МГ крови – более чем в 4 раза, сохранялось высоким содержание МСМ в крови и моче ($P < 0,05$).

В условиях выраженности токсической нагрузки наблюдали уменьшение общей концентрации альбумина до $40,45 \pm 2,66$ г/л при одновременном снижении, почти в 2 раза по сравнению к нормальными значениями, его эффективной концентрации и резервной связывающей способности характеризующих количественное и качественное снижение детоксикационных свойств альбумина в системном кровотоке. Это подтверждалось резким его ростом до $19,54 \pm 2,10$ у. е., что почти в 3 раза превышало нормальные значения ($P < 0,05$), величины коэффициента интоксикации ($P < 0,05$), который является комплексным показателем эндогенной интоксикации и отражает баланс между накоплением и связыванием токсических лигандов. Следует отметить, что снижение показателей транспортной функции альбумина было связано не столько с уменьшением его содержания в сыворотке крови, сколько обусловлено «загруженностью» молекулы токсическими метаболитами средней массы.

При анализе показателей ПОЛ установлено, что в исходном состоянии у исследуемых больных течение заболевания сопровождалось резким повышением уровня МДА в эритроцитах. Содержание его было увеличено более чем в 4 раза по сравнению с нормальными значениями и достигало у больных контрольной группы $5,81 \pm 0,11$ нмоль/мг Нб, основной – $7,13 \pm 0,22$ ($P < 0,05$). Отме-

чено также нарастание его концентрации и в плазменном компоненте крови ($P < 0,05$). На активацию процессов перекисидации липидов указывал также повышенный уровень суммарной перекисидантной активности крови. Величина этого показателя при развитии генерализованного воспаления у онкоурологических больных почти в 3 раза превышала его значения у здоровых людей ($P < 0,05$).

На фоне активации процессов ПОЛ отмечали существенное снижение КА в эритроцитах ($P < 0,05$), что расценивали как неадекватную реакцию одного из основных ферментов первой линии антиоксидантной защиты организма. Вместе с тем, уровень КА в плазме крови существенно не менялся, а уровень СОД был существенно ниже нормальных значений ($P < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о формировании дисбаланса в системах прооксиданты/антиоксиданты.

В процессе проведения комплекса базисного интенсивного лечения снижение активности процессов перекисидации липидов регистрировали только на 21 сутки лечения ($P < 0,05$). При этом активность ПОЛ сохранялась достаточно высокой, оставался значительным дефицит факторов антиоксидантной защиты организма ($P < 0,05$).

В настоящее время оценка общего состояния организма и качества жизни приобретает особую необходимость при разработке новых подходов в лечении и реабилитации онкобольных.

Нами были проанализированы показатели морфологического состава крови в динамике проведения базисного лечения. Полученные результаты свидетельствовали, что в исходном состоянии в общей выборке данных идентифицировались все типы адаптационных реакций, кроме повышенной активации. Частота выявления спокойной активации была наименьшей и составляла четвертую часть физиологических реакций. В подавляющем большинстве случаев превалировал острый стресс. Частота встречаемости острого стресса превышала его хроническую форму в 3 раза (таблица 2). В сумме обе формы стресса составляли 80% всей выборки данных на период до начала лечения.

Превалирование стрессорных реакций до начала лечения подтверждалось не только подсчетом индивидуальных, но и усредненных показателей. Так, среднегрупповой уровень лимфоцитов был намного меньше верхней границы стресса, что отражало выраженный иммунодефицит и снижение неспецифической резистентности. Смещение доли лимфоцитов, достигающее в отдельных случаях до 5-10%, при одновременном моноцитозе до 14% и анэозинофилии (0% эозинофилов у 14 из 20 пациентов) указывало, что формирование стресса происходит на низких уровнях реактивности, которые являются наименее благоприятными для мобилизации защитных систем.

Таблица 2

Структура адаптационных реакций у онкологических больных после применения экстракорпоральной иммунотерапии ронколейкином (n=55).

Тип адаптационной реакции	1 сутки	14 сутки	14 сутки
Острый стресс (%)	60,0	40,0 ¹	15,0 ¹
Хронич. стресс (%)	20,0	10,0 ¹	20,0
Тренировка (%)	15,0	40,0 ¹	50,0 ¹
Спокойн. активация (%)	5,0	10,0 ¹	15,0 ¹
Повыш. активация (%)	0	0	0
Лимфоциты, (%)	15,5	19,4	22,8 ¹
Коэффициент соотношений реакций атистресс/стресс	0,25	1,0	1,9 ¹

Примечание: 1 - $P < 0,01-0,05$ по отношению к исходным показателям.

Следовательно, картина исходного адаптивного состояния у онкоурологических больных, послеоперационный период которых сопровождался развитием генерализованного воспалительного процесса свидетельствует о глубоком нарушении структуры основных архетипов реакций физиологического типа и подавляющем преобладании стрессогенных процессов низких уровней реактивности.

Повторное исследование показателей морфологического состава крови и идентификация адаптационных реакций на 14 сутки после начала базисного лечения не улучшило ситуацию. Напротив, в структуре реакций общего типа встречался только стресс как в острой, так и в хронической форме. 100% уровень стрессорных реакций свидетельствовал о сохранении тяжести патологиче-

ского процесса на уровне организма как целого. Специфическое влияниестандартной базисной терапии не затрагивало общие механизмы адаптации в ранний период лечения, что не умаляет местного влияния ее проведения.

По истечении 21 суток от начала лечения помимо стресса стали формироваться и физиологические адаптационные реакции. Однако прежде необходимо отметить некоторое смещение равновесия между острым и хроническим стрессом в сторону его острой формы, доля которой стала превышать в 1,4 раза частоту хронической формы. Уменьшение последней свидетельствовало о переходе этой реакции отчасти в острый стресс, а отчасти – в антистрессорные реакции, которые выявлялись лишь в единичных случаях. Среднестатистический уровень лимфоцитов у больных контрольной группы на 21-е сутки от начала базисной терапии продолжал оставаться на уровне стресса средних и высоких уровней реактивности.

Обобщая полученные данные, можно утверждать, что динамика переходов реакций патологического типа в физиологические реакции была практически не выражена. Доминирующим типом на всем протяжении лечения оставался стресс, составляя сначала 90%, затем 100% и, наконец, 89,4%, в то время, как при использовании экстракорпоральной иммунотерапии этот ряд составляли 80%, 50% и 35%.

Таким образом, исходя из вышеизложенного следует, что проведение комплекса стандартного интенсивного лечения у больных контрольной группы оказывало положительное влияние на течение воспалительного процесса. Вместе с тем, у этих больных следует отметить низкие темпы регресса эндотоксикоза. Это обосновывает целесообразность включения в комплекс базисного лечения дополнительных методов, направленных на обеспечение активной дезинтоксикации, клеточного метаболизма, иммунорегуляции.

В группе больных, в комплекс интенсивной терапии которым был включен метод ЭИФТ отмечали уменьшение уровня IL-1 β с 474,1 \pm 70,8 пг/л до 341,7 \pm 29,1 пг/л ($P < 0,05$), тогда как у больных контрольной группы этот показатель значительных изменений не претерпевал ($P > 0,05$). Также диагностиро-

вали более низкую концентрацию по сравнению с контролем IL-8 и противовоспалительного медиатора – IL-1Ra, пг/л ($P<0,05$). Дальнейшее проведение ЭИФТ способствовало снижению общего уровня цитокинемии ($P<0,05$). При этом в основной группе исследования наблюдали отчетливую тенденцию к восстановлению баланса медиаторов воспалительного ответа.

После окончания программы ЭИФТ улучшалось функциональное состояние нейтрофилов. Отмечено более значительное по сравнению с контролем повышение показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста соответственно до $178,3\pm 9,8$ у. е. (в контрольной – $152,1\pm 8,2$ у. е.; $P<0,05$) и до $113,4\pm 5,1$ у. е. (в контрольной – $104,1\pm 3,1$ у. е.; $P<0,05$). Динамика представленных данных свидетельствует о повышении под влиянием ЭИФТ рекомбинантным интерлейкином-2 функциональной активности нейтрофилов периферической крови с увеличением их провоспалительного потенциала.

При анализе изменений показателей специфического иммунитета выявлено, что в отличие от контроля, у больных основной группы на фоне повышения общего количества зрелых Т-лимфоцитов увеличилось исходно низкое содержание Т-клеток-хелперов. В основной группе значения этого показателя увеличились до $26,1\pm 0,9\%$ ($P<0,05$). Это сопровождалось улучшением значений иммунорегуляторного индекса Т-лимфоцитов ($P<0,05$). Только у больных основной группы под влиянием экстракорпоральной иммунотерапии ронколейкином регистрировали нарастание концентрации Т-лимфоцитов с киллерными свойствами (CD16+), а также увеличение количества В-лимфоцитов (CD 20+) ($P<0,05$).

Имунокорректирующие эффекты ЭИФТ обеспечивали усиление активности дезинтоксикационных систем организма (таблица 3). В отличие от контрольных данных, у больных основной группы к 14 суткам лечения наблюдали адекватное купирование выраженности эндотоксемии. Это проявлялось в значительном снижении ЛИИ, β_2 -МГ крови и мочи ($P<0,05$). К 14 и 21 суткам исследования в основной группе выявили более интенсивную в

сравнении с контрольной группой динамику улучшения показателей эндотоксикации и регресса воспалительных изменений функций почек ($P < 0,05$).

Таблица 3
Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантного состояния организма в контрольной (1) и основной (2) группах исследования

Показатели	Группы больных	Значения показателей на этапах исследования			
		1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки
МДА пл., нмоль/мг Нв	1 (n=32)	11,66±0,40	10,01±0,37	9,21±0,41 ¹	8,22±0,39 ¹²³
	2 (n=31)	11,60±0,45	11,15±0,49	8,16±0,44 ¹²³⁴	
МДА эр., нмоль/мг Нв	1 (n=32)	7,31±0,26	7,11±0,19	7,01±0,20	6,35±0,19 ¹²³
	2 (n=31)	7,13±0,22	7,20±0,22	6,96±0,28	5,79±0,22 ¹²³⁴
СПА, ед./мл	1 (n=32)	10,29±0,33	10,10±0,27	9,92±0,21	9,11±0,31 ¹²³
	2 (n=31)	10,31±0,26	10,08±0,29	10,01±0,37	8,25±0,39 ¹²³⁴
КА эр., ед./мг Нв	1 (n=32)	38,00±1,92	38,00±2,45	41,11±1,32	41,12±0,22
	2 (n=31)	38,01±2,17	38,11±3,21	47,21±2,20 ³	48,21±1,71 ³
КА пл., нмоль Н ₂ О ₂ /мл/мин.	1 (n=32)	5,33±0,32	5,97±0,42	5,55±0,30	5,86±0,37
	2 (n=31)	5,39±0,47	6,01±0,51	5,41±0,46	6,21±0,51
СОД, ед./мг Нв	1 (n=32)	1,22±0,21	1,22±0,20	1,81±0,20 ⁴	2,05±0,20 ⁴
	2 (n=31)	1,23±0,31	1,15±0,29	1,19±0,27	1,34±0,27

Примечание: 1 - $P < 0,01-0,05$ в сравнении с исходом;

2 - $P < 0,01-0,05$ в сравнении с 7 сутками;

3 - $P < 0,01-0,05$ в сравнении с 14 сутками;

4 - $P < 0,01-0,05$ в сравнении с контрольной группой.

При анализе полученных результатов у больных основной группы регистрировали более раннее увеличение фильтрации почками МСМ и уменьшение концентрации β_2 -МГ в моче ($P < 0,05$), что указывало на снижение активности генерализованного воспаления. Эти изменения у больных основной группы выявили к 14 и 21 суткам лечения ($P < 0,05$). Здесь же диагностировали значительное снижение исходно увеличенного уровня МДА плазмы и эритроцитов, суммарной пероксидантной активности крови ($P < 0,05$). Значения этих показателей были ниже результатов, полученных в контрольном исследовании ($P < 0,05$). При этом у больных основной группы к 14 и 21 суткам лечения констатировали более высокую по сравнению с контролем концентрацию СОД и клеточной КА ($P < 0,05$) (таблица 3).

Адекватность иммуномодулирующих эффектов ЭИФТ ронколейкином патогенетической структуре иммунных дисфункций обосновывает целесооб-

разность его применения в комплексе интенсивного лечения больных генерализованным воспалением, осложнившим послеоперационный период онкоурологических больных.

Применение в комплексе лечения генерализованного воспаления рекомбинантного интерлейкина-2 оказывало положительное влияние на течения адаптационных реакций организма. Так у больных основной группы исследования на 7 сутки от начала лечения основным позитивным моментом явилось формирование реакций антистрессорного характера. Частота выявления реакции тренировки превысила исходный уровень в 2,7 раза ($P < 0,05$). Вдвое увеличилось число случаев развития реакции спокойной активации, а идентифицировать реакцию повышенной активации ни в одном случае не удалось. Иными словами, в структуре антистрессорных реакций лидирующее место занимала реакция тренировки, доля которой в 4 раза была выше, чем спокойной активации ($P < 0,05$). В то же время половину общегрупповой структуры составляли реакции стрессорного типа. Однако была статистически подтверждена инволютивная динамика развития этих реакций. Выявляемая до лечения в 60% случаев доля острой формы стресса сократилась к 14 суткам от начала лечения в 1,5 раза, а частота хронической формы – в 2 раза ($P < 0,05$). Также установлено, что использование в комплексе интенсивного лечения ЭИФТ способствует выраженному биоадаптивному эффекту. Это проявлялось в устойчивой динамике формирования интегральных антистрессорных реакций с преобладанием реакции тренировки, достигающих к 21 суткам лечения уровня 65% и обеспечивающих различие коэффициента соотношения со стрессом в 19 раз по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Кардинальная смена интегральных реакций в пользу формирования антистрессорных состояний указывает на общность механизмов биоадаптивных процессов.

Дополнение в комплекс лечения методов экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 позволило улучшить результаты лечения этих больных (таблица 4). Уменьшилась частота перехода заболевания в более тяжелые стадии до $18,1 \pm 2,8$ % (в контрольной группе – $37,5 \pm 2,2$ %;

$P < 0,05$), сократились сроки проведения интенсивного лечения до $5,1 \pm 0,5$ суток (в контрольной группе – $7,7 \pm 0,8$ суток; $P < 0,05$), снизилась ооющая госпитальная летальность с 13,7 до 9,1 % ($P < 0,05$).

Таблица 4

Результаты лечения больных в основной (с применением экстракорпоральной иммунотерапии гИЛ-2) и контрольной группах.

Показатели	Значения показателей по группам больных	
	Контрольная	Основная
Средняя длительность интенсивного лечения, к/день	$9,7 \pm 0,6$	$5,1 \pm 0,5$
Общая летальность, %	13,7	9,1

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют, что у онкоурологических больных, послеоперационный период которых осложнился гнойно-септическими осложнениями, развитие генерализованной воспалительной реакции протекает на фоне повышения сывороточного содержания как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, нарушения цитокинового баланса, снижения фагоцитарной активности нейтрофилов, формирования вторичной Т-клеточной недостаточности с преимущественным дефицитом Т-лимфоцитов с хелперными свойствами, нарушением процессов антигенспецифического иммунного ответа. При этом важную роль играет развитие окислительного стресса.

Включение в комплекс интенсивного лечения данной категории больных экстракорпоральной иммунофармакотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 обеспечивает адекватность его корригирующих эффектов патогенетической структуре иммунных дисфункций, оказывает положительное влияние на течение окислительно-восстановительных и адаптационных реакций организма, течение генерализованного воспаления, улучшает исходы госпитального этапа лечения этих больных.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у 87 из 410 урологических больных, которым были произведены оперативные вмешательства по поводу онкологических заболеваний (21,2 %), течение послеоперационного периода сопровождается развитием гнойно-септических осложнений. Развитие генерализованного воспаления характеризовалось резким повышением по сравнению со здоровыми людьми концентрации сывороточного содержания провоспалительных (IL-1 β до 290,0+69,3 пг/л; TNF- α до 136,0+23,4 пг/л; IL-8 до 500,8+88,3; P<0,05), смещением цитокинового баланса в сторону избыточного превалирования противовоспалительных медиаторов. Это сопровождалось углублением исходной вторичной иммунодепрессии: лейкопении, снижением значений относительно исхода показателей стимулированного НСТ-теста, истощением пула Т-лимфоцитов хелперов при при росте супрессорных клеток на 7,3 %, отсутствием роста концентрации иммуноглобулинов, увеличением продукции ЦИК, угнетением функциональной активности нейтрофилов (P<0,05).

2. Включение в патологический процесс патофизиологических механизмов системного воспаления способствовало развитию эндотоксемии. Выявлено повышение более, чем в 5 раз лейкоцитарного индекса интоксикации, в 2 и более раз молекул средней массы в крови и моче, увеличение синтеза β_2 микроглобулина (P<0,05).

3. Системная активация процессов перекисного окисления липидов в ответ на воспаление приводила к истощению антиоксидантного потенциала, угнетению ответных реакций антиоксидантной системы, нарушению оксидантно-антиоксидантного баланса. Выявлено значительное повышение МДА плазмы и эритроцитов, СПА, уменьшение эритроцитарной КА и СОД (P<0,05).

4. Применение в комплексе интенсивного лечения гнойно-септических послеоперационных осложнений у онкоурологических больных экстракорпоральной иммунотерапии ронколейкином способствовало более раннему и выраженному купированию активности генерализованной воспалительной

реакции, степени выраженности эндотоксемии, оптимизации течения окислительно-восстановительных и адаптационных реакций организма. Под влиянием экстракорпоральной иммунотерапии отмечена устойчивая динамика формирования интегральных антистрессорных реакций с преобладанием реакции тренировки, достигающих к 14 суткам лечения уровня 65% и обеспечивающих различие коэффициента соотношения со стрессом в 19 раз по сравнению с контролем ($P<0,05$).

5. Включение в комплекс интенсивного лечения онкоурологических больных экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 позволило улучшить результаты лечения. Снизилась частота перехода генерализованного воспаления в более тяжелые стадии с 37,5 % до 18,1 %, сократились сроки проведения интенсивного лечения с $7,7\pm 0,8$ до $5,1\pm 0,6$ суток, госпитальная летальность уменьшилась с 13,7% до 9,1% ($P<0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Патогенетически обосновано и целесообразно включение в комплекс интенсивного лечения онкоурологическим больным, послеоперационный период которых осложнился развитием гнойно-септических осложнений, экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2.

2. Проведение экстракорпоральной иммунотерапии следует осуществлять посредством обработки лейкомассы (3 млн клеток), полученной в процессе лейкоцитафереза, 300 тыс. М.Ед. ронколейкина в течение 90 минут при температуре 37°C с последующей реинфузией. Лейкоцитаферез следует проводить на сепараторах крови.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. П.П. Моргун, А.Н. Шевченко, Н.Д. Ушакова / Влияние экстракорпоральной иммунотерапии rIL-2 на течение эндотоксического синдрома у онкоурологических больных, развившегося в послеоперационном периоде // В кн. Рецидивная болезнь в плане оценки прогноза и выбора адекватного лечения. - 2010. - С. 555-560.

2. Н.Д. Ушакова, П.П. Моргун, А.И. Шихлярова, Т.А. Снежко / Влияние экстракорпоральной иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином – 2 на характер и структуру интегральных адаптационных реакций при гнойно-септических осложнениях у онкоурологических больных // XII съезд анестезиологов-реаниматологов России: Тезисы докладов. - Москва., 2010 – С. 97.

3. П.П. Моргун., Н.Д. Ушакова., Е.Ю Златник., Т.А. Снежко / Экстракорпоральная иммунотерапия Ронколейкином в коррекции эндотоксемии при гнойно-септических осложнениях у онкоурологических больных // Цитокины и воспаление. – Т. 9, № 4 - 2010. – С. 104-105

4. Г.К. Максимов, Н.Д. Ушакова, П.П. Моргун, Т.А. Снежко / Структура адаптационных реакций организма у онкологических больных после проведения экстракорпоральных методов детоксикации // Вестник Южного научного центра РАН – Т. 6, № 2 – 2010 - С.86-89.

Список условных обозначений

- ОКА – общая концентрация альбумина
 АОС – антиоксидантная система крови
 КА – каталаза
 КИ – коэффициент интоксикации
 ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации
 МДА – малоновый диальдегид
 МСМ – молекулы среднемoleкулярной массы
 ОПН – острая почечная недостаточность
 ПОЛ – перекисное окисление липидов
 СОД – супероксиддисмутаза
 СПА – суммарная пероксидантная активность
 ССА – связывающая способность альбумина
 ХПН – хроническая почечная недостаточность
 ЭКА – эффективная концентрация альбумина
 β_2 -МГ – β_2 -микроглобулин

Печать цифровая. Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс».

Формат 60x84/16. Объем 1,0 уч.-изд.-л.

Заказ № 2333. Тираж 100 экз.

Отпечатано в КМЦ «КОПИЦЕНТР»

344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Суворова, 19, тел. 247-34-88
