

Жуков В.И., *Перепада С.В., Зайцева О.В., Граматюк С.Н.,

Книгавко В.Г., Бондаренко М.А., Гордиенко Н.А.

Харьковский национальный медицинский университет, г.Харьков, Украина

**Харьковская медицинская академия последипломного образования, г.Харьков,*

Украина

Состояние неспецифической и специфической иммунологической резистентности у больных раком прямой кишки и оптимизация патогенетической терапии

Вопрос о том, что первично - опухолевый процесс или формирование иммунологической недостаточности, остается открытым. Если первична иммунодепрессия, то изучение иммунологии опухолей может способствовать решению проблемы и выработке мер профилактики, но если дело обстоит наоборот, то констатация иммунологической несостоятельности онкологических больных может иметь не большее значение, чем наличие лейкоцитоза и высокой СОЭ, которые характерны также для воспалительных заболеваний.

Убежденные последователи изучения роли иммунологических процессов в канцерогенезе утверждают, что первичным является появление иммунологического дефицита, то есть нарушение иммунологической напряженности [1-3]. Вторичным является действие онкогенных факторов, которые вызывают бесконтрольный рост клеток, что приводит в организме к нарушению иммунологического контроля. Онкогенные факторы при этом вызывают подавление иммунной защиты организма, и только в данных условиях возможна злокачественная пролиферация клеток. Из этого следует, что судьба опухоли определяется силой и эффективностью иммунного ответа организма на опухолевый рост [4]. По мнению других авторов [5,6], первичным является трансформация нормальной клетки в опухолевую под влиянием

онкогенных факторов, а вторичным - развитие иммунологической реакции на нее. Это отнюдь не значит, что иммунная система не принимает участие в механизмах развития канцерогенеза и противораковой защиты организма. Из этого следует, что современные достижения по проблеме изучения иммунологии опухолей не снимают противоречия различных теорий развития канцерогенеза.

В связи с вышеизложенным, **целью работы** являлось изучение состояния неспецифической и специфической иммунологической резистентности у больных раком прямой кишки, обоснование патогенетической терапии и прогноза выздоровления.

Материалы и методы исследования. Программа исследования предусматривала изучение состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных раком прямой кишки (РПК) по показателям специфической и неспецифической резистентности организма. Клинико-диагностические и лабораторно-инструментальные методы подтвердили у 54 пациентов (29 мужчин, 25 женщин) в возрасте от 43 до 68 лет наличие данной патологии. Первая (I) стадия обнаружена у 6 больных (4 мужчин, 2 женщин), вторая (II) установлена у 8 пациентов (5 мужчин, 3 женщины), третья (III) - у 33 человек (17 мужчин, 16 женщин) и четвертая (IV) стадия заболевания определена у 7 пациентов (3 мужчины, 4 женщины). Группа сравнения состояла из 17 условно здоровых пациентов (8 женщин, 9 мужчин) такого же возраста.

Неспецифическая иммунологическая резистентность организма изучалась на основании определения фагоцитарной активности нейтрофилов, бактерицидности кожных покровов, показателей белой и красной крови и содержания в сыворотке крове циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Общепринятыми клиническими методами исследовалось содержание лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и метгемоглобина в крови и ЦИК в сыворотке крови [7,8]. При определении фагоцитарной активности нейтрофилов оценивали интенсивность поглощения микробов, процент фагоцитоза, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, процент и индекс

переваривания по отношению к золотистому стафилококку (штамм 209). В каждом отпечатке просматривали 100 нейтрофилов и отмечали количество фагоцитирующих нейтрофилов, для которых определяли число поглощенных и переваренных микробов [8]. При оценке состояния аутофлоры и бактерицидности кожи использовался метод Н.Н. Клемпарской [8].

Состояние клеточного и гуморального иммунитета, характеризующее специфическую иммунологическую резистентность, изучали путем исследования в сыворотке крови общей популяции Т-лимфоцитов (CD3+), субпопуляций Т-лимфоцитов: Т-хелперов (CD4) и Т-супрессоров (CD8), содержания естественных клеток киллеров (CD16) и В-лимфоцитов (CD19) с использованием моноклональных антител (CD3+, CD4, CD8, CD16 и CD19) иммунофлуоресцентным методом. Гуморальное звено иммунной системы оценивалось по содержанию фактора некроза опухолей (ФНО- α) и иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA) в сыворотке крови с использованием иммуноферментного анализа и диагностической тестсистемы фирмы «Протеиновый контур» (С.-Петербург, Россия). Все исследования проводились в первый или второй день госпитализации.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием методов вариационной статистики и оценкой достоверности различий по t-критерию Стьюдента-Фишера.

Результаты и их обсуждение. Изучение состояния белой и красной крови у больных РПК (табл. 1) обнаружило снижение содержания эритроцитов при II стадии заболевания на 21,2%, при III - на 31%, при IV на - 35%. Эти результаты коррелировали с уменьшением концентрации гемоглобина на 29%; 45,2% и 54% соответственно при II, III и IV стадиях опухолевого процесса. Со стороны белой крови отмечалось достоверное снижение лейкоцитов только при III и IV стадиях заболевания. В зависимости от стадии канцерогенеза наблюдалось существенное повышение уровня метгемоглобина. Такая динамика исследуемых показателей может быть связана с усилением аутоинтоксикации, изменением структуры макромолекул и, как следствие,

развитием гипохромной анемии, особенно при III и IV стадиях онкопатологии.

Таблица 1

Состояние белой и красной крови у больных РПК

Группа наблюдения	Показатели, М ±m			
	Эритроциты (г/л)	Лейкоциты (г/л)	Гемоглобин (ммоль/л)	Метгемоглобин (%)
Условно здоровые	5,20±0,36	6,30±0,44	13,5±1,26	3,10±0,25
Больные: I стадия	5,10±0,46	6,42±0,53	11,48±1,34	8,40±0,36*
II стадия	4,13±0,28*	6,10±0,38	9,32±0,84*	14,80±0,31*
III стадия	3,65±0,32*	5,26±0,23*	7,40±0,65*	25,13±2,25*
IV стадия	3,4±0,27*	4,7±0,38*	6,20±0,83*	35,32±2,76*

Примечание: * - различия с группой «условно здоровые» достоверные, $p < 0,05$

Определение содержания ЦИК в сыворотке крови выявило снижение уровня крупномолекулярных и увеличение средне- и низкомолекулярных ЦИК (табл.2). Так, при II, III и IV стадиях РПК отмечалось соответственно снижение содержания крупномолекулярных ЦИК на 30,3%; 44,0% и 55,4%. Концентрация среднемолекулярных ЦИК повышались на 170,0%, 241,6% и 262,5% при II, III и IV стадиях заболевания, тогда как количество низкомолекулярных ЦИК увеличивалось при соответствующих стадиях канцерогенеза на 58%, 75% и 108%. Появление в больших количествах молекул средней массы и низкомолекулярных пептидов в сыворотке крови, особенно при III и IV стадиях патологического процесса, является свидетельством развития эндогенной интоксикации организма и формирования мембранной патологии, тогда как снижение содержания крупномолекулярных ЦИК может отражать ингибирование синтетической продукции иммуноглобулинов и нарушение гуморального иммунитета.

Таблица 2

Содержание ЦИК в сыворотке крови больных РПК

Группа наблюдения	Содержание ЦИК, осаждаемых полиэтиленгликолем м.м. 6000 (г/л), М±m		
	ПЭГ 3,5 % (крупномолекулярные)	ПЭГ 5% (среднемолекулярные)	ПЭГ 6,5% (низкомолекулярные)

	ЦИК)	ЦИК)	ЦИК)
Условно здоровые	2,35±0,27	0,24±0,006	0,36±0,09
Больные: I стадия	2,43±0,32	0,27±0,004	0,40±0,008
II стадия	1,64±0,18*	0,65±0,012*	0,57±0,007*
III стадия	1,32±0,15*	0,82±0,015*	0,63±0,013*
IV стадия	1,05±0,12*	0,84±0,08	0,75±0,02*

Примечание: * - различия с группой «условно здоровые» достоверные, $p < 0,05$

Результаты исследования естественной неспецифической иммунобиологической резистентности организма больных РПК по активности фагоцитарных клеток представлены в табл.3. Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов не обнаружила достоверных различий по этому показателю между условно здоровой группой наблюдения и больными РПК с I стадией онкологического процесса. При II, III и IV стадиях канцерогенеза наблюдалось снижение фагоцитарного числа, индекса поглощения и индекса переваривания микробов. Поглощение и переваривание стафилококков на один активный нейтрофил снижалось и имело тесную связь со стадией развития заболевания. Эти данные показывают, что при РПК происходит ингибирование клеточного звена иммунитета, выраженность которого сопряжена со стадией онкологического процесса и аутоинтоксикацией организма.

Таблица 3

Фагоцитарная активность нейтрофилов больных РПК

Группа наблюдения	Фагоцитарное число	Индекс поглощения	Индекс переваривания	Поглощение стафилококков на 1 активный нейтрофил	Переваривание стафилококков на 1 активный нейтрофил
Условно здоровые	72,40±5,30	6,20±0,40	1,20±0,15	7,62±0,58	4,23±0,35
Больные: I стадия	69,37±3,42	5,75±0,38	1,08±0,12	7,13±0,46	3,96±0,27
II стадия	48,96±4,28*	3,87±0,26*	0,74±0,08*	5,62±0,43*	2,74±0,16*
III стадия	35,73±5,14*	2,98±0,32*	0,56±0,04*	4,21±0,35*	1,63±0,19*

IV стадия	21,65±3,17*	2,43±0,33*	0,42±0,05*	2,27±0,18*	1,12±0,007*
-----------	-------------	------------	------------	------------	-------------

Примечание: * - различия с группой «условно здоровые» достоверные, $p < 0,05$

Результаты исследования аутофлоры и бактерицидности кожных покровов у больных РПК представлены в табл. 4. Обнаружено повышение уровня колонизации микрофлоры на кожных покровах больных РПК. Интенсивность развития аутофлоры была тесно сопряжена с тяжестью заболевания и стадией опухолевого процесса. Так, при III стадии количество аутофлоры увеличивалось в 3, а при IV - в 3,3 раза в сравнении с группой условно здоровых пациентов. На фоне повышения уровня колонизации аутофлоры отмечалось увеличение бактерицидности кожных покровов, что свидетельствовало об ингибировании неспецифической иммунобиологической резистентности организма больных с онкопатологией толстого кишечника.

Таблица 4

Состояние аутофлоры и бактерицидности кожных покровов больных РПК

Группа наблюдения	Показатели, количество колоний E.Coli M±m	
	аутофлора	бактерицидность
Условно здоровые	27,3±2,1	78,2±7,4
Больные: I стадия	38,6±4,3*	125,3±8,2*
II стадия	64,7±3,8*	178,4±6,4*
III стадия	82,5±6,4*	210,8±11,7*
IV стадия	90,8±6,5*	230,4±12,6*

Примечание: * - различия с группой «условно здоровые» достоверные, $p < 0,05$

Результаты изучения состояния клеточного и гуморального иммунитета, характеризующего специфическую иммунологическую резистентность, представлены в табл. 5. При I стадии заболевания обнаружено отсутствие различий с группой «условно здоровых» в содержаниях Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), В-лимфоцитов (CD19) и иммуноглобулинов – IgG, IgM. Содержание естественных клеток киллеров

(СД16) в периферической крови при этом снижалось на 16%, ФНО-α - на 24%, а количество IgA повышалось на 12,8%. У больных со II стадией отмечалось снижение уровней исследуемых показателей, кроме секреторного иммуноглобулина (IgA), уровень которого повышался на 63% в сравнении с данными условно здоровой группы. Значительное ингибирование клеточного и гуморального иммунитета наблюдалось при III и IV стадиях развития опухолевого процесса. Так, при IV стадии общее количество Т-лимфоцитов снижалось в 2 раза, Т-хелперов, Т-супрессоров, Т-киллеров – более, чем в 2,5 раза, В-лимфоцитов - в 1,7 раза, фактор некроза опухоли (ФНО-α) уменьшался в сыворотке крови больных при этой стадии в 2,9 раза, а уровень иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) – более, чем в 1,8 раза. Анализ исследования динамики этих показателей позволяет судить о том, что в условиях развития канцерогенеза толстого кишечника наблюдается ингибирование клеточного звена иммунной системы, что подтверждается значительным падением уровней В-лимфоцитов и иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA).

Таблица 5

Состояние клеточного и гуморального иммунитета у больных РПК

Показатели (пкг/мл)	Группа наблюдения, M±m				
	Больные, стадии процесса				Условно здоровые
	I	II	III	IV	
Т-лимфоциты (СД3 ⁺)	885,6±30,8	769,4±42,5*	553,6±28,4*	458,3±16,7*	928,4±26,3
Т-хелперы (СД4)	302,4±15,6	226,7±13,4*	165,3±9,4*	125,7±5,8*	330,20±12,6
Т-супрессоры (СД8)	273,4±18,3	250,8±9,3*	159,3±8,4*	112,6±7,8*	295,6±18,2
Т-киллеры (СД16)	232,7±14,2*	176,4±8,3*	132,7±6,9*	104,3±6,5*	275,3±14,3
В-лимфоциты (СД19)	220,6±13,7	184,3±9,6*	158,5±6,7	136,4±7,2*	232,6±19,8
ФНО-α	270,3±16,2*	234,7±12,8*	182,6±17,4*	120,6±9,5*	354,2±21,7
IgM	52,7±3,5	43,5±2,6*	35,8±1,6*	30,4±2,4*	54,3±4,5
IgG	43,4±4,2	35,6±2,8*	27,2±2,3*	24,6±1,7*	46,7±3,4

IgA	49,6±3,4*	62,8±5,2*	26,5±2,1*	20,5±1,3*	38,5±3,2
-----	-----------	-----------	-----------	-----------	----------

Примечание: * - различия с группой «условно здоровые» достоверные, $p < 0,05$

Таким образом, результаты исследований обнаружили ингибирование неспецифической резистентности организма у больных РПК, что характеризовалось снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и усилением бактерицидности кожных покровов при перераспределении спектра ЦИК и повышении роста аутофлоры, на фоне развития эндогенной интоксикации, эритропении, лейкопении и метгемоглобинемии, особенно при неоперабельной форме опухолевого процесса. Динамика этих показателей тесно сопряжена с формированием иммунологической недостаточности клеточного и гуморального звена иммунной системы, что требует проведения антиоксидантной, антитоксической и иммунологической коррекции при осуществлении патогенетической терапии больных РПК.

Литература

1. Цыганенко А.Я. Структурно-метаболические механизмы формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета под воздействием детергентов в связи с проблемой охраны водных экосистем / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, Н.Г. Щербань и др. // Харьков, 2001. - 411с.
2. Винник Ю.А. Прогностическое значение метаболитов обмена аминокислоты L-триптофана у больных раком толстого кишечника / Ю.А. Винник, С.В. Перепада, В.И. Жуков и др. // Вісник проблем біології і медицини. - 2009. - Вип. 2. - С. 93-97.
3. Гунина Л.М. Биохимические критерии ранней диагностики острого послеоперационного панкреатита у онкологических больных / Л.М. Гунина, Е.А. Федоренко // Новое в лабораторной диагностике болезней внутренних органов. Ворошиловград, 1989. - С. 214-215. IV- съезд республиканского научного общества врачей-лаборантов.
4. Олейник С.Ф. Биология канцерогенеза / С.Ф. Олейник, М.В. Панчишин //

Львов: Вища школа. - 1987. - 177с.

5. Кузьмин С.Д. Биохимия лимфатического цикла опухолевых клеток / С.Д. Кузьмин // Киев: Наукова думка. -1984. - 172с.

6. Ткач С.М. Колоректальный рак, распространенность, основные факторы риска и современные подходы к профилактике / С.М. Ткач, А.Ю. Иоффе// Украинский терапевтический журнал. - 2005. - №2. - С. 83-88.

7. Предтеченский В.Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям / В.Е. Предтеченский, под редакцией Л.Г. Смирновой, Е.А. Кост // М.: Медгиз. - 1969. – 926 с.

8. Фремель Х. Иммунологические методы / Х. Фремель // М.: Медицина. - 1987.- 425 с.