

О.Ф. МЕЛЬНИКОВ, Р.А. АБЫЗОВ, Н.В. БОЖКО, Т.Ю. ВАСИЛЕНКО

ВЛИЯНИЕ ТКАНЕВОЙ ЭЛЕКТРОСВАРКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ

НМАПО им. П.Л. Шупика МЗ Украины; ГУ «Институт отоларингологии им. проф. А.И. Колумийченко АМН Украины»

В восстановительной хирургии тканей после проведенных операций давно и с успехом используются различные физические факторы и созданные на основе их действия медицинские приборы. Одним из сравнительно новых направлений в хирургических клиниках является «электросварка» биологических тканей, основанная на принципе протеин-ассоциированной электротермической адгезии тканей [11, 15]. Вместе с тем во многих аспектах остается неизвестным влияние данного метода на состояние иммунитета, которое, по современным данным, определяет успех восстановительного периода после операций, длительность ремиссии и отсутствие побочных реакций [3, 6, 16].

Цель работы – определить влияние «электросваривания» тканей при операции по поводу рака гортани на показатели системного иммунитета в ближайшем послеоперационном периоде.

Материалы и методы

Иммунологические исследования выполнены у 23 больных раком гортани (основная группа, ОГ) в возрасте от 30 до 70 лет, находящихся на стационарном лечении в ЛОР-отделении Киевской областной клинической больницы, у которых произведена операция ларингэктомии с использованием электросварочного комплекса ЭК-300 М1 и набора хирургических насадок (регистрационный номер 3383 от 2004 г.). Группа сравнения (ГС) из 25 человек была прооперирована с применением обычного хирургического инструментария в аналогичные сроки с одинаковым характером и объемом хирургического вмешательства. Дополнительно

определялись показатели иммунитета у 12 лиц контрольной группы, практически здоровых доноров (К).

Больные обеих групп имели морфологически и клинически обоснованный диагноз рака гортани T₂₋₄N₀₋₂M₀, стадия II-IV, клиническая группа 2. При гистологическом исследовании удаленных опухолей доминировала форма плоскоклеточного орогового рака (50,8% пациентов основной группы).

С учетом современных тенденций в определении иммунного статуса онкологических больных [3] было проведено определение числа Т-лимфоцитов, моноцитов и больших гранулярных лимфоцитов (БГЛ), их функциональной активности, а также концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), содержания раково-эмбрионального антигена (РЭА), цитокинов – интерлейкина-1β (ИЛ-1), фактора некроза опухоли (ФНО-α). Исследования выполнялись до операции в день поступления больных в стационар и на 8-е сутки после проведения операции. Материалом для исследований служила стерильно взятая кровь из локтевой вены, сепарированная в градиенте плотности фиколл-верографина (d=1,077) для получения мононуклеаров и сыворотки из части крови без гепарина.

Число клеток определялось методом розеткообразования с применением эритроцитарных диагностикумов на основе моноклональных антител (CD₃ – для Т-лимфоцитов, CD₁₄ – для идентификации моноцитов и CD₅₆ – для определения БГЛ). Исследования выполнялись в соответствии с рекомендациями Д.К. Новикова, П.Д. Новикова [12], Л.В. Ковальчука [8].

Функциональная активность Т-лимфоцитов оценивалась с использованием индекса взаимодействия лимфоцитов [13], активность фагоцитирующих клеток - в тесте поглощения частиц латекса с последующим микроскопированием мазков и вычислением фагоцитарного показателя (ФП) и фагоцитарного индекса (ФИ), при этом использовались рекомендации И.П. Кайдашева и соавторов [7]. Деструктивная активность естественных цитотоксических клеток (ЕЦК), большая часть из которых представлена БГЛ, изучалась в цитолитическом тесте против эритроцитов цыплят с последующей спектрофотометрией надосадка из культуральной среды, как это рекомендовано О.Ф. Мельниковым, Т.А. Заяц (1999). Концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови определялись методом радиальной иммунодиффузии в геле с применением метода в описании Simmons (1971), реактивов НПО «Микроген» (Н. Новгород, РФ) и с графическим расчетом концентрации. Концентрация ЦИК исследовалась путем осаждения сыворотки раствором (3,75%) полиэтиленгликоля с последующим спектрофотометрированием [4].

РЭА и цитокины определялись с использованием иммуноферментного метода, применяя для определения РЭА набор реактивов CanAg EIA (Швеция), для ИЛ-1 β и ФНО- α - реактивы ООО «Протеиновый контур» (Спб, РФ). В качестве иммуноферментного анализатора служил ридер Stat Fax 2100 (США). Статистическая обработка данных выполнена с использованием непараметрического критерия «U» (Вилкоксона-Манна-Уитни) с представлением средних значений и пределов минимальных и максимальных колебаний отдельных значений.

Учитывались рекомендации Е.В. Гублера (1978).

Результаты и их обсуждение

Количественная характеристика CD₃⁺, CD₁₄⁺, CD₅₆⁺ клеток крови у обследуемых различных групп представлена в табл. 1. Как следует из приведенных в ней данных, число Т-лимфоцитов и БГЛ у больных раком гортани до операции было достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у лиц контрольной группы (26,5% и 51,2% в контроле для Т-лимфоцитов и 0,2% и 2,7% для БГЛ, соответственно). Существенных отличий в содержании CD₁₄⁺клеток у больных раком гортани до операции и в контрольной (К) группе выявлено не было. После проведения хирургического вмешательства с применением «электросварки» тканей гортани и обычным методом существенных сдвигов по сравнению с исходными показателями не обнаружено. В табл. 2 представлены результаты изучения функциональной активности Т-лимфоцитов по индексу взаимодействия лимфоцитов и показано, что использование электросварочной тканевой технологии при выполнении операции не углубляло дефицит функциональной активности Т-лимфоцитов, тогда как проведение операции по обычному методу приводило к еще большему снижению активности Т-клеток (ИВЛ был $> 1,0$). Аналогичные по вектору изменения были получены и при определении деструктивной активности ЕЦК крови (табл. 2). Так, способность разрушать ксеногенные эритроциты при применении метода «электросваривания» тканей достоверно повышалась по сравнению с исходным уровнем, а при выполнении хирургического вмешательства обычным методом практически не изменялась.

Таблица 1

Содержание Т-лимфоцитов, клеток моноцитарного ряда и БГЛ в крови у больных раком гортани до операции, ОГ и ГС после операции и у практически здоровых доноров

Группы обследуемых	Относительное содержание клеток, %		
	Т- лимфоциты	Б Г Л	моноциты
Контроль	51,2 (40-61)	2,7 (1-3)	6,5 (4-8)
Больные до операции	26,5* (20-33)	0,2* (0-1,5)	8,1 (6-10)
ОГ после	30,2* (20-38)	0,55* (0-1,5)	7,5 (6-10)
ГС (после)	29,2* (20-33)	0,6* (0-2)	8,1 (5-11)

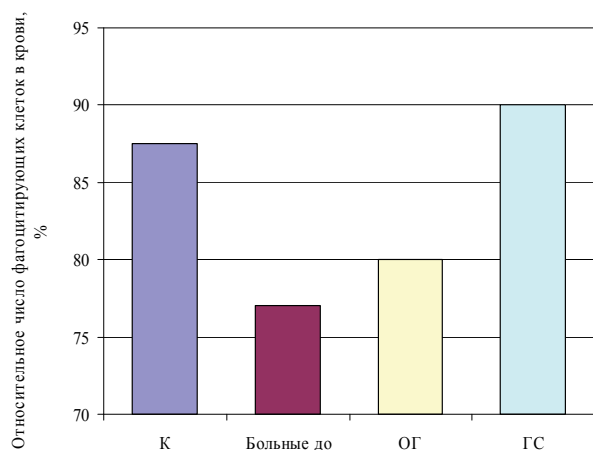
Обозначения (здесь и далее): * - достоверно по отношению к контролю ($p < 0,05$).

Таблица 2

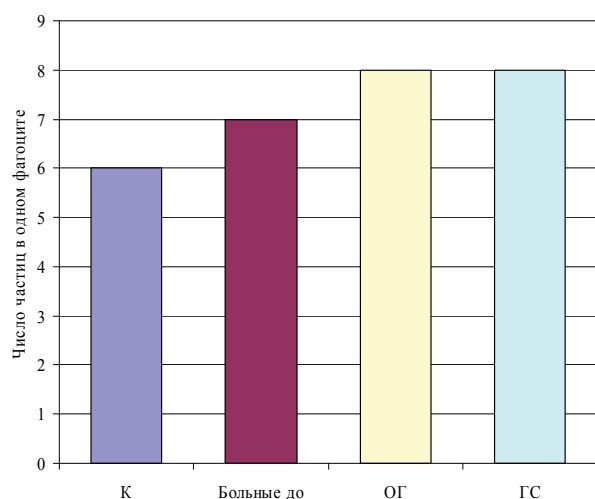
Функциональная активность Т- лимфоцитов и ЕЦК крови у больных раком гортани до операции, в ОГ и ГС после операции и у лиц контрольной группы

Группы обследуемых	Т-лимфоциты (ИВЛ)	ЕЦК (% деструкции мишеней)
Контроль	0,5 (0,3-0,8)	44,5 (30-50)
Больные до операции	1,1* (0,5-1,4)	16,4* (10-22)
ОГ после	0,8 (0,5-1,0)	33,5 (20-44)
ГС после	1,1* (0,6-1,2)	20,0 (10-30)

Показатели фагоцитарной активности клеток крови после операции как по новой технологии, так и при традиционной изменялись недостоверно (рис. 1).



А. Фагоцитарный показатель



Б. Фагоцитарный индекс

Рис. 1. Уровень фагоцитарной активности у лиц контрольной группы и у больных до и после операции

Уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови у пациентов при раке гортани до операции отличались от показателей в контрольной группе по содержанию IgA, которое было достоверно выше у больных. Существенных колебаний в уровне иммуноглобулинов исследованных классов в послеоперационном периоде по сравнению с исходным и показателями как в группе ОГ, так и в ГС выявлено не было (рис. 2).

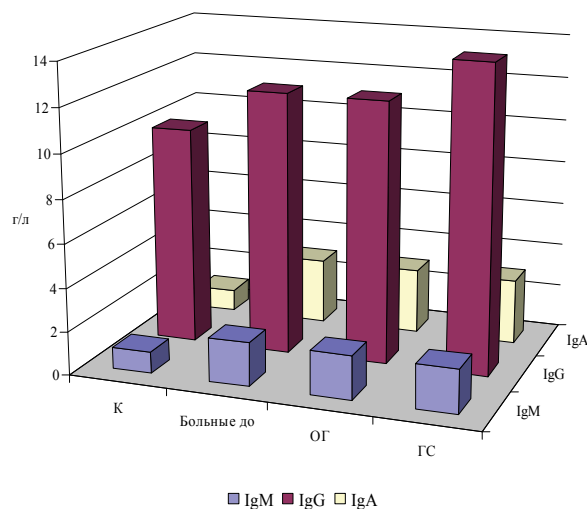


Рис. 2. Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови у больных различных групп и у практически здоровых доноров

Содержание ЦИК у больных раком гортани в исходном состоянии перед операцией было достоверно более высоким, чем у лиц контрольной группы, и не изменялось в ближайшем периоде после операции в обеих группах (рис. 3).

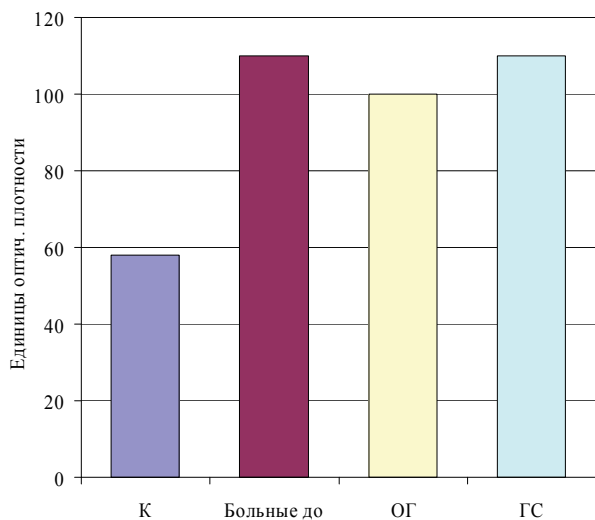


Рис. 3. Содержание ЦИК в сыворотке крови у больных различных групп и у практически здоровых доноров

Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови у пациентов позволило обнаружить, что содержание ИЛ-1 β и ФНО- α было выше, чем в контрольной группе, более чем в 3 раза (табл. 3) и не

претерпевало существенных изменений на 8-й день после операции в обеих группах. Аналогичная картина отмечена и в отношении содержания РЭА в крови у больных как в группе ОГ, так ГС (рис. 4).

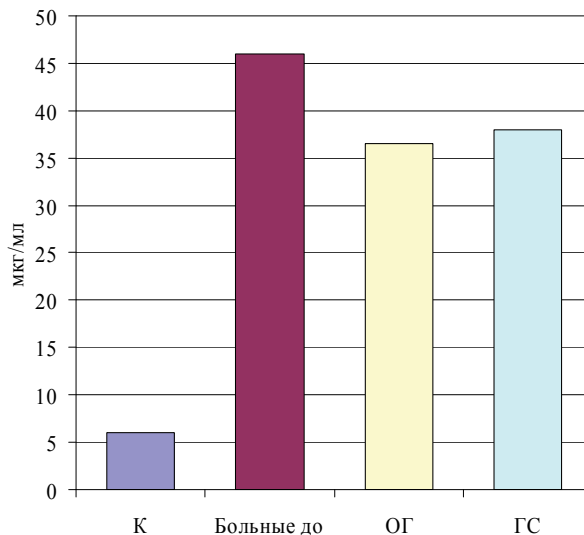


Рис. 4. Содержание РЭА в сыворотке крови у больных раком гортани различных клинических групп и у практически здоровых доноров

Таблица 3

Концентрации цитокинов в сыворотке крови у обследуемых различных клинических групп

Группы обследуемых	Концентрация цитокинов, пг/мл	
	ИЛ-1 β	ФНО- α
Контрольная	11,2 (0-28)	13,5 (0-22)
Больные до операции	68,5* (23-110)	89,6* (34-180)
ОГ после операции	55,8* (30-96)	54,2 (34-89)
ГС после операции	66,6* (30-86)	61,2* (40-120)

Полученные в ходе иммунологического обследования данные подтверждают результаты исследования других авторов о состоянии различных звеньев иммунитета при онкологических заболеваниях, в том числе и при раке гортани [1-3, 10, 14, 17, 19]. Важно подчеркнуть, что применение «электросварочной» технологии в процессе

хирургического вмешательства не только не ухудшает имеющиеся показатели системного иммунитета, но даже может способствовать активации некоторых механизмов противоракового иммунитета, например, усилению деструктивной способности ЕЦК, что рассматривается как благоприятный признак [1].

1. Бережная Н.М. Иммунитет и злокачественные новообразования // Докл. Акад. мед. наук Украины. – 1998. – №1. – С. 20-31.
2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. – Киев: ДИА, 2000. – 224 с.
3. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – Киев: Наукова думка, 2005. – 788 с.
4. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. – 1981. – №8. – С. 493-496.
5. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. – Л.: Медицина, 1978. – 294 с.
6. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Киев: Полиграф-Плюс, 2006. – 481 с.
7. Кайдашев І.П. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. – Полтава: Полимет, 2003. – 320 с.
8. Ковальчук Л.В. Антипенные маркеры иммунной системы человека CD. – Москва: РГМУ, 2003. – 76 с.
9. Мельников О.Ф., Заяц Т.А. Сравнение изотопного и спектрофотометрического методов определения цитотоксичности клеток // Лаб. диагностика. – 1999. – №1. – С. 43-45.
10. Мельников О.Ф., Тимченко С.В., Самбур М.Б., Заяц Т.А. Индивидуальный подбор иммунокорректоров для лечения онкологических больных // Материалы науч. конф. «Имуноterapia при лікуванні злоякісних новоутворень». – Київ, 1998. – С. 80-82.
11. Нечитайло М.Є., Фурманов Ю.А., Литвиненко А.Н., Ляшенко А.А. Використання методу електротермоадгезії біологічних тканин в лапароскопічній хірургії // Шпитальна хірургія. – Тернопіль, 2001. – №3. – С. 42-44.
12. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Метод определения Т- и В-лимфоцитов диагностикумами на основе моноклональных антител // Иммунология. – 2000. – №2. – С. 31-33.
13. Самбур М.Б. Способ оценки взаимодействия лимфоцитов in vitro, основанный на определении их розеткообразующей способности // Иммунология. – 1991. – № 2. – С. 30-33.
14. Троян В.И., Мельников О.Ф., Морозова Н.О. Влияние операционного стресса на иммунологические показатели у больных раком гортани // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2001. – № 1. – С. 40-42.
15. Фурманов Ю.А., Ляшенко А.А. Методы физического воздействия на живые ткани во время хирургических операций // Клінічна хірургія. – Київ, 2002. – №5-6. – С. 53-55.
16. Хаитов Р.М., Пинегин В.Б. Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение // Иммунология. – 1999. – №1. – С. 14-19.
17. Pardoll D. Does the immune system see tumors as foreign or self? // Ann. Rev. Immunol. – 2003. – V.21. – P. 807-839.
18. Simmons P. Quantitation of plasma proteins in low concentrations using RID // Clin. Chim. Acta. – 1971. – V.35. – P. 52-57.
19. Zinkernagel R.M. Что недостает иммунологии для понимания иммунитета? // Аллергология и иммунология (М). – 2001. – №1. – С. 7-15.

Поступила в редакцию 16.01.09.

© О.Ф. Мельников, Р.А. Абызов, Н.В. Божко, Т.Ю. Василенко, 2009

ВПЛИВ ТКАНЕВОГО ЕЛЕКТРОЗВАРЮВАННЯ НА ПОКАЗНИКИ СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ

*Мельников О.Ф., Абызов Р.А., Божко Н.В.,
Василенко Т.Ю. (Київ)*

Резюме

Визначався вміст основних імунокомпетентних клітин периферичної крові у хворих на рак гортані, їх функціональна активність, а також рівень імуноглобулінів різних класів, імуних комплексів, цитокінів і раково-ембріонального антигену. Було виявлено, що проведення хірургічного втручання із застосуванням тканевого «електрозварювання» у порівнянні з традиційним методом виконання ларингектомії не змінювало суттєво показників системного імунітету у найближчому після операції періоді, але сприяло активації природних цитотоксичних клітин.

INFLUENCE OF TISSUE ELECTRO-WELDING ON THE INDEXES OF SYSTEMIC IMMUNITY OF PATIENTS WITH LARYNX CANCER

*Melnikov O.F., Abisov R.A., Bozhko N.V.,
Vasilenko T.Yu. (Kiev)*

Summary

The contents of the main immune-competent cells in peripheral blood of patients with larynx cancer, their functional activity and the level of various classes of immunoglobulines, cytokines and carcinoembryonic antigen were tested. It were detected that surgery intervention with usage of tissue electro-welding in compartment to traditional methods of laryngectomy didn't cause noticeably the indexes of systemic immunity in the nearest post-operative period but promoted to activation of the natural cytotoxic cells.