

УДК 616-006-089-06-085.37:612.017

Т.С. Запорожец, Т.Л. Грицуц

ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИЩЕ «ТИНРОСТИМ» НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (г. Владивосток),
Приморский краевой онкологический диспансер (г. Владивосток)

Ключевые слова: цитокины, онкология, послеоперационный период.

Взаимодействие иммунокомпетентных клеток и сбалансированность вырабатываемых ими цитокинов напрямую отражают состояние иммунной системы [4, 5, 7]. Изучение уровней цитокинов позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о тяжести воспалительного процесса, прогнозе и эффективности проводимой иммунокоррекции.

Доказано, что механизмами развития дисфункции клеточного звена иммунитета у хирургических больных с послеоперационными осложнениями являются индукция анергии и усиление апоптоза Т-лимфоцитов, которые развиваются на фоне дисбаланса цитокинов и их растворимых рецепторов [2]. Для адекватного иммунного ответа и защиты организма в динамике послеоперационного периода необходимо определенное количество цитокинов, обеспечивающих баланс про- и противовоспалительных реакций [6]. Противовоспалительные цитокины, в частности фактор некроза опухоли- α (TNF α), играют важную роль в процессе заживления послеоперационной раны [8]. Нарушение продукции и рецепции противовоспалительных цитокинов в раннем послеоперационном периоде приводит к глубоким нарушениям антиинфекционной защиты и развитию послеоперационных осложнений. В то же время резкое увеличение секреции противовоспалительных цитокинов или дисбаланс соотношения оппозиционных пулов могут приводить к реинфекции, присоединению нозокомиальных инфекций, формированию «молчащих» абдоминальных абсцессов, развитию иммуносупрессии, вплоть до иммунологического паралича [2].

В этой связи мы провели исследование сывороточных уровней про- и противовоспалительных цитокинов у онкологических больных, получавших биологически активную добавку «Тинростим»¹ в послеоперационном периоде. Уровень γ -интерферона (IFN γ) и интерлейкина-4 (IL-4) в сыворотке крови определяли при помощи твердофазного иммунофер-

ментного анализа с использованием коммерческой тест-системы «Протеиновый контур», а для TNF α — «Цитокин».

Под наблюдение были взяты 80 женщин (средний возраст $56,3 \pm 1,6$ года), которые находились на лечении в отделении онкогинекологии Приморского краевого онкологического диспансера. У всех больных был верифицирован рак гениталий (рак яичников и рак эндометрия I–III стадий) и на момент включения в исследование у них имелись клинические, рентгенологические и лабораторные признаки прогрессирования заболевания. У 72 человек диагностирована сопутствующая хроническая патология со стороны различных систем организма. Таким образом, по своему основному заболеванию, частоте выявления сопутствующей патологии, а также возрастному составу включенные в исследование больные относились к группе исходно иммунокомпromетированных лиц.

Для профилактики послеоперационных осложнений в комплекс предоперационной подготовки включали тинростим в течение 14 дней до операции (по 1 мг два раза в день в утренние и вечерние часы). Тинростим хорошо переносится, побочных эффектов ни в одном случае не зарегистрировано. Данная биологически активная добавка ни в коей мере не заменяет базовую антибактериальную симптоматическую терапию, а является дополнением к ней.

Пациентки были разделены на 4 группы по 20 человек каждая. Всех включенных в исследование женщин рандомизировали методом случайной выборки на однородные, сопоставимые по возрасту и клинической картине группы. Женщины первой контрольной группы получали только базовую терапию, для больных первой опытной группы базовая предоперационная терапия была дополнена тинростимом.

Вторую контрольную группу составили пациентки с осложнениями после оперативного вмешательства, не получавшие тинростим в комплексе лечения. Во вторую опытную группу вошли женщины, которые в комплексе послеоперационного лечения получали тинростим. Каждую из двух последних групп делили на две части: 1-я — больные с негнойными осложнениями (серомы, гематомы, гиперемия швов, культит) и 2-я (больные с тяжелыми гнойными осложнениями). Для статистического анализа использован непараметрический критерий Вилкоксона при сравнении двух попарно связанных между собой вариационных рядов.

Мы не обнаружили статистически значимых различий в содержании TNF α в сыворотке крови во всех исследуемых группах в предоперационном периоде в сравнении со здоровыми донорами: средний уровень цитокина во всех группах обследуемых больных составил $3,4 \pm 0,9$ пг/мл (в группе здоровых доноров — $4,3 \pm 1,1$ пг/мл, $p > 0,05$). Похожие результаты приводил

¹ Тинростим — пептид из нервной ткани кальмара. Патент Российской Федерации № 2105504 от 27.08.1998 г., регистрационное удостоверение № 77.99.20.928.Б.000280.03.04 от 02.03.2004 г.

ряд авторов. Например, М. Nowak et al. [9] показали, что уровни IL-6, TNF α и IFN γ в сыворотке крови больных с раком яичника не отличались от таковых у здоровых женщин. А.Р. Тугуз [3], исследовавшая цитокиновый профиль онкологических больных с послеоперационными осложнениями, обнаружила, что в динамике послеоперационного периода у больных с негнойными осложнениями способность к продукции цитокинов сохранялась, при тяжелых гнойных осложнениях – резко снижалась.

Профилактический курс тинростима в период подготовки к операции приводил к умеренному увеличению концентрации TNF α в сыворотке крови больных (рис. 1). На 7-е сутки после операции у больных с неосложненным течением послеоперационного периода концентрация этого цитокина в сыворотке крови составляла в контрольной группе $6,3 \pm 0,83$ пг/мл, в опытной (после профилактического курса тинростима) увеличивалась до $11,5 \pm 2,5$ пг/мл, значимо отличаясь как в динамике послеоперационного периода, так и в сравнении с контролем.

У больных контрольной группы с неблагоприятным течением послеоперационного периода уровень TNF α в сыворотке крови в это время статистически значимо не увеличивался (по сравнению с предоперационным периодом) и составлял в группах лиц с негнойными и гнойными осложнениями $3,7 \pm 0,4$ и $2,8 \pm 0,4$ пг/мл соответственно. В динамике послеоперационного периода концентрация TNF α в сыворотке крови у этих больных также не изменялась и составляла на 14-е сутки $3,1 \pm 0,7$ и $3,2 \pm 0,6$ пг/мл соответственно.

Включение тинростима в комплекс лечения больных с негнойными осложнениями сопровождалось умеренным увеличением концентрации TNF α в сыворотке крови в динамике послеоперационного периода, достигая значимых различий с показателями значений в контрольной группе к 14-м суткам ($20,9 \pm 8,2$ пг/мл). Содержание TNF α в сыворотке крови пациенток с тяжелыми осложнениями послеоперационного периода значимо не отличалось от такового в сыворотке крови больных второй контрольной группы ($4,6 \pm 1,8$ пг/мл).

В развитии послеоперационных осложнений подавление функции Th2-лимфоцитов (IL-4) в предоперационном периоде имеет немаловажное значение [8]. Так, например, в работе М. Nowak et al. [9] показано, что у больных с послеоперационными осложнениями содержание IL-4 в сыворотке крови в предоперационном периоде было снижено по сравнению с теми больными, у которых эти осложнения не развивались. Практическое отсутствие сывороточного IL-4 у больных со злокачественными опухолями связывают с истощением резервных возможностей клеток-продуцентов или переходом на качественно новый уровень с другими механизмами саморегуляции с продукцией других цитокинов [1].

Следует подчеркнуть, что низкие уровни сывороточных цитокинов могут не отражать истинных концентраций этих медиаторов в крови и быть следствием как гипо- или ареактивности онкологических больных, так и результатом специфического связывания их растворимыми рецепторами, возможно находящимися в крови в высоких концентрациях. Так, например, в работе А.Р. Тугуз [3] показана возможность существования недетектируемых форм цитокинов и их элиминации при гемофильтрации у онкологических больных.

В наших исследованиях до операции содержание IL-4 у 75% больных не превышало нижних пределов чувствительности метода, средний уровень этого цитокина среди всех обследуемых составил $3,2 \pm 1,7$ пг/мл (здоровые доноры – $5,6 \pm 1,9$ пг/мл). Значимых различий в содержании IL-4 в группах больных с послеоперационными осложнениями и без таковых не выявлено (рис. 1).

На 7-е сутки после операции у больных с благоприятным течением послеоперационного периода в 65% случаев в контрольной группе и в 65% случаев в опытной группе IL-4 в сыворотке крови не обнаруживался, средний уровень цитокина составил в контрольной группе $6,7 \pm 4,4$ пг/мл, в опытной – $6,4 \pm 3,3$ пг/мл.

У больных второй контрольной группы с негнойными осложнениями послеоперационного периода отмечено увеличение концентрации IL-4 до $14,8 \pm 9,2$ пг/мл, которая значимо не изменялась в динамике (на 14-е сутки – $11,0 \pm 3,5$ пг/мл, $p > 0,05$). Однако при тяжелых послеоперационных осложнениях IL-4 в крови не определялся. В одном случае при нагноении послеоперационной раны содержание IL-4 было высоким – 183 пг/мл, оставаясь повышенным в динамике послеоперационного периода до 190 пг/мл.

У больных опытной группы с негнойными осложнениями, получавших в комплексе лечения тинростим, содержание IL-4 в динамике послеоперационного периода повышалось с $9,0 \pm 4,5$ пг/мл на 7-е сутки до $22,0 \pm 7,3$ на 14-е сутки, значимо отличаясь от показателей контроля. При гнойных осложнениях увеличения концентрации цитокина в сыворотке крови не выявлено.

Важнейшей функцией γ -интерферона является его участие в опосредовании связей между лимфоцитами и макрофагами и в регуляции соотношения клеточной и гуморальной составляющих иммунного ответа. Продуцентами IFN γ являются Т-лимфоциты и NK-клетки. Он служит стимулятором макрофагов, способствуя проявлению различных функций этих клеток, включая обработку и представление антигенов, выработку цитокинов, генерацию активных форм кислорода и азота. IFN γ , как и интерфероны α и β , обладает противоопухолевым и противовирусным действием. Являясь гуморальным продуктом Т- и NK-клеток, он, по-видимому, участвует в реализации цитотоксического эффекта.

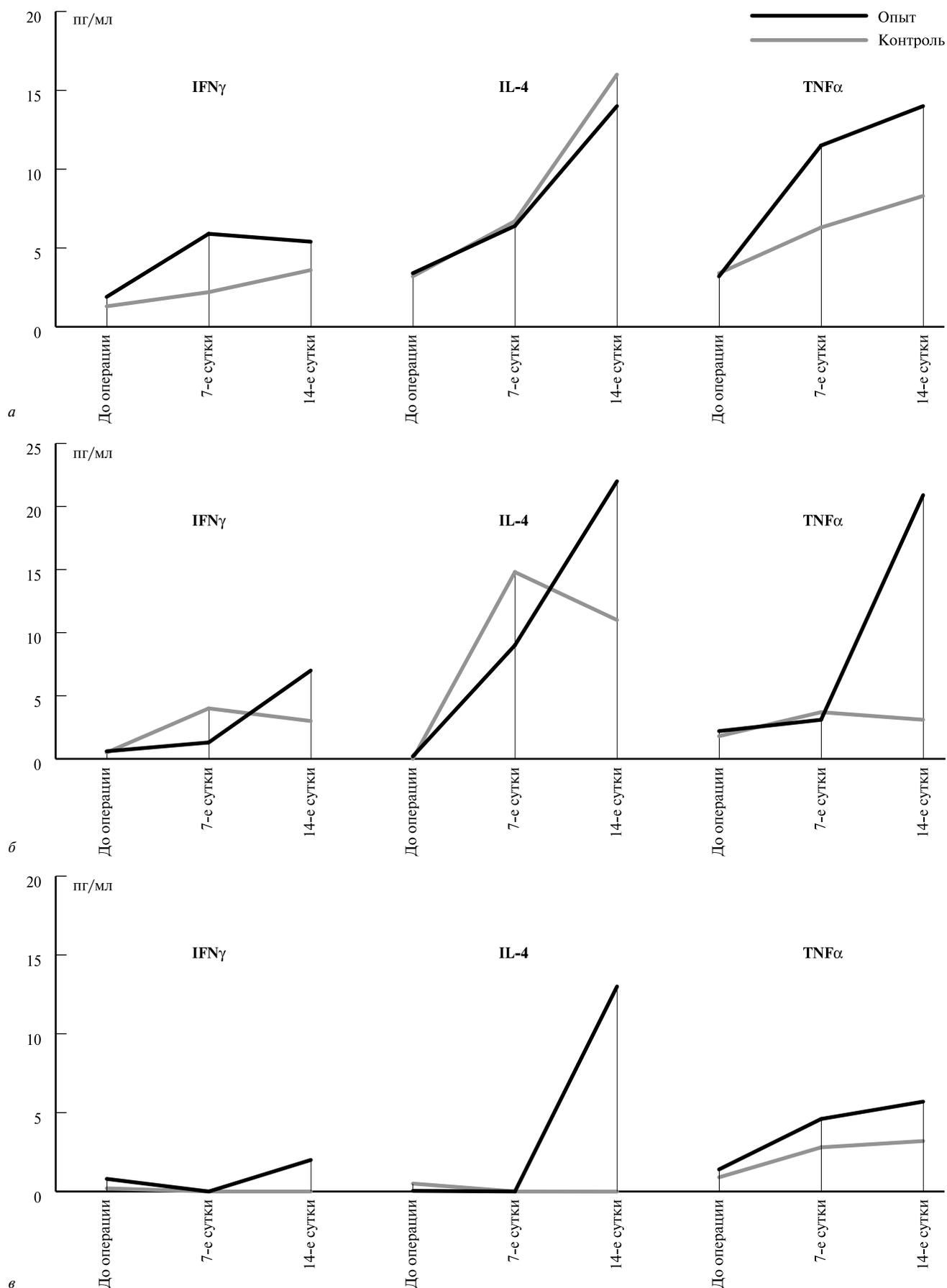


Рис. 1. Кинетика TNF α , IFN γ , IL-4 в сыворотке крови онкогинекологических больных.

а – без послеоперационных осложнений; *б* – с негнойными послеоперационными осложнениями; *в* – с гнойными послеоперационными осложнениями.

INF γ перед операцией не выявлялся у 65% больных с благоприятным течением послеоперационного периода и у 75% больных с осложнениями. Средний уровень INF γ среди всех обследуемых составил $1,2 \pm 0,8$ пг/мл (здоровые доноры — $21,8 \pm 2,1$ пг/мл). На 7-е сутки после операции у больных с благоприятным течением послеоперационного периода в контрольной группе в 62,5% случаев INF γ в сыворотке крови не определялся, средний уровень составил здесь $2,2 \pm 0,9$ пг/мл, в опытной группе (после профилактического курса тинростима) — $5,9 \pm 1,5$ пг/мл, значительно отличаясь как в динамике послеоперационного периода, так и в сравнении с контролем (рис. 1). У больных контрольной группы с негнойными осложнениями послеоперационного периода в динамике отмечено некоторое увеличение концентрации цитокина: средний уровень INF γ составлял $6,5 \pm 1,7$ и $3,0 \pm 1,2$ пг/мл на 7-е и 14-е сутки соответственно. При тяжелых послеоперационных осложнениях INF γ в крови на 7-е и 14-е сутки не определялся, лишь в одном случае при развитии перитонита его концентрация в сыворотке крови достигала 900 пг/мл.

У больных с негнойными осложнениями, получавших в комплексе лечения тинростим, содержание INF γ в динамике послеоперационного периода повышалось с $1,3 \pm 0,5$ пг/мл на 7-е до $7,2 \pm 2,8$ на 14-е сутки. При гнойных осложнениях изменений содержания цитокина в сыворотке крови не зарегистрировано.

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить следующие закономерности продукции цитокинов у больных онкогинекологическими заболеваниями: в предоперационном периоде содержание фактора некроза опухоли- α в сыворотке крови больных не превышало значений показателя у здоровых доноров, интерлейкин-4 и γ -интерферон не выявлялись у 60–80% больных. При этом не было обнаружено значимых различий в содержании провоспалительных цитокинов у онкологических больных с осложнениями и без таковых. В послеоперационном периоде у больных с негнойными осложнениями способность к продукции цитокинов сохранялась, однако при тяжелых гнойных осложнениях — резко снижалась: фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-4 и γ -интерферон в крови не определялись.

Назначение профилактического курса тинростима на этапе предоперационной подготовки привело к умеренному увеличению содержания фактора некроза опухоли- α , γ -интерферона и интерлейкина-4 в сыворотке крови в послеоперационном периоде. Включение тинростима в комплекс лечения больных с негнойными осложнениями (серома, гематома, гиперемия послеоперационных швов, культиты) также сопровождалось повышением продукции цитокинов. При тяжелых послеоперационных осложнениях (разлитой перитонит, абсцесс, флегмона, оумкованный гнойник) включение тинростима

в комплекс лечебных мероприятий не обеспечивало стимуляции продукции цитокинов. Представляется, что в этих случаях необходима заместительная цитокинотерапия либо стимуляция большей интенсивности, которая может достигаться использованием лекарственных форм иммуномодуляторов, вводимых парентерально. Это, однако, не исключает целесообразности применения тинростима в комплексной предоперационной подготовке даже в случае развития осложнений, так как эта биологически активная добавка способствует быстрому заживлению ран, сокращению сроков послеоперационного периода, снижению тяжести послеоперационных осложнений, а также сокращению сроков пребывания больного в стационаре.

Литература

1. Громова Е.Г., Тугуз А.Р., Киселевский М.В., Матвеев В.Б. // *Иммунология*. — 2002. — № 4. — С. 232–234.
2. Останин А.А., Леплина О.Ю., Швецова Е.Я. и др. // *Russian Journal of Immunology*. — 2000. — № 3. — С. 289–300.
3. Тугуз А.Р. *Иммунотопогенез ранних послеоперационных осложнений у онкологических больных: автореф. дис. ... докт. мед. наук.* — М., 2002.
4. Фрейдлин И.С. // *Иммунология*. — 2001. — № 5. — С. 4–7.
5. Хаитов Р.М. *Физиология иммунной системы*. — М.: ВИНТИ РАН, 2001.
6. Черных Е.Р., Останин А.А. // *Иммунология, иммуногенетика, иммунопатология: материалы VI отчетной конференции ГУ НИИКИ СО РАМН*. — Новосибирск, 2003. — С. 231–234.
7. Ярилин А.А. *Основы иммунологии*. — М.: Медицина, 1999.
8. Chow L.W., Loo W.T., Yuen K.Y. et. // *Wound Repair Regen*. — 2003. — Vol. 11, No. 5. — P. 236–330.
9. Nowak M., Szpakowski M., Malinowski A., Wiczorec et al. // *Ginekol. Pol.* — 2001. — Vol. 72, No. 12A. — P. 1444–1448.

Поступила в редакцию 22.11.05.

ACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE TINROSTIM ON CYTOKINE LEVEL AT ONCO-GYNECOLOGIC PATIENTS

T.S. Zaporozhets, T.L. Gritsyuk

Scientific Research Center of Epidemiology and Microbiology Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Science, Primorsky Regional Oncological Clinic (Vladivostok)

Summary — Total 80 women suffering by onco-gynecologic diseases are examined. Part of the patients in a complex of pre- and postoperative therapy have been added the biologically active additive "Tinrostim". In dynamics of the postoperative period the patients with not purulent complications still had the ability to cytokine production; at severe purulent complications this ability was reduced. The use of "Tinrostim" at a stage of preoperative care resulted in moderate increase in the level of the tumors necrosis factor - α , IL-4 and γ -interferon in blood in the postoperative period. The use of "Tinrostim" in a complex of postoperative treatment was accompanied by increase of cytokine production only in case of not severe complications.