

ИЗМЕНЕНИЕ МЕСТНОГО И СИСТЕМНОГО ИММУННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА В БЛИЖАЙШЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ МАСТЭКТОМИИ

Михаил Семенович ЛЮБАРСКИЙ¹, Ольга Анатольевна ТКАЧУК², Владимир Евгеньевич ВОЙЦИЦКИЙ², Юрий Эммануилович НАРОВ², Вадим Валерьевич НИМАЕВ¹, Владимир Иосифович КОНЕНКОВ¹

¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

²ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава
630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

Изучены лабораторные критерии, характеризующие степень и динамику течения иммунно-воспалительной реакции в ближайшем послеоперационном периоде у пациенток после радикальной мастэктомии, включающие оценку содержания некоторых иммунологических показателей (интерлейкина-2, интерлейкина-6, интерлейкина-8, лактоферрина и нативной ДНК) в сыворотке крови и раневом отделяемом (лимфе). Впервые проведено иммунологическое исследование раневого отделяемого (лимфы) из-под лоскута после радикальной мастэктомии.

Ключевые слова: мастэктомия, интерлейкины, нативная ДНК, лактоферрин.

Рак молочной железы занимает первое место среди злокачественных заболеваний женского населения в России, и за последние 30 лет смертность от этого недуга и заболеваемость им возросли в 4 раза. Основным этапом комплексного лечения пациенток, страдающих раком молочной железы, остается хирургический [1–3]. Так, в Новосибирской области в 2009 году хирургический метод был использован в 100 % случаев лечения, так как является неотъемлемой частью комплексного и комбинированного лечения. У всех больных после выполнения радикальной мастэктомии наблюдается длительная лимфорея от 20 суток до нескольких месяцев, а частота ранних гнойно-септических послеоперационных осложнений (диастаз краев раны, нагноение послеоперационной раны, некроз краев раны и др.) остается высокой и составляет от 0,5 до 19,3 % случаев [4–6].

Высокая частота послеоперационных осложнений объясняется следующими обстоятельствами: спецификой онкологических операций, которые предусматривают удаление больших объемов тканей органа с прилежащими лимфатическими сосудами единым блоком; высокой травматичностью; частым нарушением регионарного лимфотока вследствие иссечения лимфатических коллекторов, что создает условия для развития и генерализации инфекции и ослабления иммунитета [7]. Исходя из этого, целью нашего исследования явилось изучение иммунно-воспалительного ответа у пациенток с лимфореей

после радикальной мастэктомии в ближайшем послеоперационном периоде.

Материал и методы

В исследование на основании добровольного информированного согласия и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266, вошли 55 женщин после радикальной мастэктомии, выполненной по поводу рака молочной железы I и II стадии. По гистологической классификации встречались следующие нозологические формы: у 18 женщин – неинфильтрирующий протоковый рак, у 20 – инфильтрирующий протоковый рак и у 17 – инфильтрирующий дольковый рак. Группу контроля составили 25 условно здоровых женщин, не имеющих онкологической патологии. Всем пациенткам из основной группы проводилось комплексное лечение, включая два основных компонента – хирургический и лекарственный. Женщины поступали во 2-е хирургическое отделение Новосибирского областного онкологического диспансера за 3–5 дней до проведения радикальной мастэктомии по Маддену (функционально щадящая операция с сохранением обеих грудных мышц и удалением подмышечно-подключично-подлопаточной клетчатки единым

Любарский М.С. – д.м.н., проф., чл.-кор. РАМН, Заслуженный врач РФ, зам. директора по науке; e-mail: ponomareva@soramn.ru

Ткачук О.А. – ассистент кафедры онкологии; e-mail: nai2@rambler.ru

Войццкий В.Е. – д.м.н., проф. кафедры онкологии, зам. главного врача по лечебной части

Наров Ю.Э. – д.м.н., проф., зав. кафедрой онкологии, Заслуженный врач РФ, главный врач

Нимаев В.В. – д.м.н., зав. лабораторией оперативной лимфологии; e-mail: nimaev@gmail.com

Коненков В.И. – д.м.н., проф., академик РАМН, директор; e-mail: konenkov@soramn.ru

блоком). После операции устанавливался вакуумный дренаж под лоскут, из которого и осуществлялся забор раневого отделяемого. Время предоперационной подготовки варьировало в зависимости от полноты обследования пациенток и необходимости коррекции их сопутствующей патологии и осложнений после неoadьювантного лечения (полихимиотерапии).

Полихимиотерапию в стандартных дозах с антрациклинами по схеме CAF (циклофосфан – 100 мг/м², доксорубин – 30 мг/м², 5-фторурацил – 500 мг/м²) в количестве 4-х курсов с интервалом в 2 недели получали 55 пациенток. Циклофосфан вводился внутримышечно ежедневно в дозе 100 мг/м² с 1-го по 14-й день полихимиотерапии, доксорубин и 5-фторурацил – внутривенно в 1-й и 8-й день полихимиотерапии в дозах 30 и 500 мг/м² соответственно. Длительность одного курса составляла 14 дней. Осложнения после полихимиотерапии наблюдались в виде лейкопении I и II степени у 15 пациенток (в 27,3 % случаев), купировались введением колониестимулирующих препаратов – нейпогена 48 млн ЕД (480 мкг) подкожно 1 раз в сутки в течение 2–3 дней. Осложнений, требующих прекращения полихимиотерапии или снижения (редуцирования) доз химиопрепаратов, не наблюдалось. За сутки до операции производился забор крови для лабораторных исследований. Исследования крови повторялись на 1-е и 7-е послеоперационные сутки с включением изучения раневого отделяемого (лимфы) в указанный период. Определение содержания аутоантител к антигенам нативной ДНК в сыворотке крови и лимфе проводилось с использованием коммерческих тест-систем производства ЗАО «Вектор-БЕСТ» (п. Кольцово) по

инструкции производителя. Для определения содержания аутоантител к антигенам нативной ДНК в анализируемых пробах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Результаты выражали в МЕ. Определение концентрации лактоферрина выполнялись на тест-системах производства ЗАО «Вектор-БЕСТ» по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм. Результаты выражали в нг/мл. Для определения концентрации лактоферрина в анализируемых пробах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Определение содержания интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8) в исследуемых биологических жидкостях выполняли на коммерческих тест-системах производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм. Для определения концентрации интерлейкинов в анализируемых образцах строился калибровочный график по «средним» оптической плотности каждого стандартного раствора. Результаты выражали в пг/мл.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (М), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде М ± m.

Таблица 1

Содержание ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, лактоферрина и аутоантител к антигенам нативной ДНК в сыворотке крови пациенток контрольной группы и пациенток, перенесших радикальную мастэктомию (М ± m)

Группы	Показатели (содержание)				
	ИЛ-2, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ИЛ-8, пг/мл	Лактоферрин, нг/мл	ААТ к нДНК, МЕ/мл
Контрольная группа (n = 25)	34,2 ± 5,6	28,9 ± 4,3	36,6 ± 4,6	1112 ± 117	23,9 ± 3,8
Пациентки после радикальной мастэктомии:					
до оперативного лечения (n = 55)	127 ± 14,3*	169,6 ± 28,3*	446 ± 56*	1657 ± 157*	58,7 ± 11,2*
в 1-е сутки после оперативного лечения (n = 55)	280 ± 38***	297 ± 30***	558 ± 71*	2678 ± 200***	75,9 ± 13,1*
на 7-е сутки после оперативного лечения (n = 55)	254 ± 32*	178 ± 12,4*	439 ± 65*	1657 ± 157*	58,7 ± 11,2*

Примечание: * – достоверно отличается от содержания изучаемого показателя в контрольной группе (p < 0,05), ** – достоверно отличается от содержания изучаемого показателя в группе до оперативного лечения (p < 0,05).

Для установления различия средних показателей в сравниваемых группах использовали критерий Стьюдента, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В соответствии с целью и задачами настоящего исследования было проведено лабораторное тестирование сыворотки крови 55 женщин в 1-е и 7-е сутки после радикальной мастэктомии. После операции всем пациенткам устанавливался вакуумный дренаж под лоскут, из которого производился забор раневого отделяемого после оперативного лечения. В результате проведенных исследований были получены следующие данные, в обобщенном виде представленные в **таблицах 1 и 2**.

Концентрация цитокина ИЛ-2, определяющего клеточную цитотоксичность, в сыворотке крови пациенток после мастэктомии в 1-е сутки после оперативного лечения в 8,1 раза превышала значение аналогичного показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0,01$). При сравнении значений изучаемых показателей было установлено, что концентрация ИЛ-2 в сыворотке крови после проведения операции в 2,2 раза превышает содержание цитокина до оперативного лечения и достоверно от них отличается ($p < 0,05$). Содержание изучаемого интерлейкина в раневом отделяемом было достоверно ($p < 0,05$), в 4,25 раза, выше, чем в сыворотке крови. На 7-е сутки после оперативного лечения концентрация ИЛ-2 в сыворотке крови достоверно не изменилась относительно данных, полученных в 1-е сутки послеоперационного лечения, в 2 раза превысила значение аналогичного показателя до оперативного лечения ($p < 0,01$) и была в 7,3 раза выше, чем концентрация ИЛ-2 в контрольной группе пациенток ($p < 0,01$). При этом в раневом отделяемом (лимфе) содержание ИЛ-2 было достоверно ниже (в 1,8 раза, $p < 0,01$), чем в первые сутки послеоперационного периода.

Следующим этапом настоящего исследования была оценка динамики изучаемых показателей, обладающих провоспалительной активностью. Концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-6 в сыворотке крови пациенток в 1-е сутки после радикальной мастэктомии в 10,2 раза превышала значение аналогичного показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалась ($p < 0,01$). При сравнении значений изучаемого показателя было установлено, что в сыворотке крови в 1-е сутки после проведения операции оно в 1,75 раза выше, чем до оперативного лечения ($p < 0,05$), а в раневом отделяемом — в 4,7 раза больше, чем в сыворотке крови. Концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови женщин на 7-е сутки после радикальной мастэктомии достоверно ($p < 0,05$) снизилась относительно данных, полученных в 1-е сутки послеоперационного лечения (в 1,45 раза) и не отличалась от концентрации этого провоспалительного цитокина до оперативного лечения, однако оставалась достоверно ($p < 0,05$), более чем в 7 раз, выше, чем в контрольной группе. Содержание ИЛ-6 в лимфе в указанный период было достоверно ($p < 0,05$), в 1,57 раза, ниже, чем в первые сутки послеоперационного периода.

Содержание провоспалительного хемоаттрактанта ИЛ-8 в сыворотке крови пациенток в 1-е сутки после мастэктомии в 15,2 раза превышало значение аналогичного показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0,01$). При сравнении значений изучаемого показателя установлено, что в сыворотке крови в 1-е сутки после проведения операции оно было в 1,25 раза выше, чем до оперативного лечения, однако выявленная тенденция к нарастанию концентрации ИЛ-8 не была достоверной. Содержание ИЛ-8 в раневом отделяемом в этот период наблюдения в 3,75 раза превышало его содержание в сыворотке крови ($p < 0,05$). Концентрация ИЛ-8 в сыворотке крови женщин на 7-е сутки после радикальной мастэктомии до-

Таблица 2

Содержание ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, лактоферрина и аутоантител к антигенам нативной ДНК в раневом отделяемом (лимфе) пациенток после радикальной мастэктомии в различные сроки послеоперационного периода ($M \pm m$)

Послеоперационный период	Показатели (содержание)				
	ИЛ-2, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ИЛ-8, пг/мл	Лактоферрин, нг/мл	ААТ к нДНК, МЕ/мл
1-е сутки после оперативного лечения (n = 55)	1191,5 ± 52,3	1405 ± 78	2093 ± 24	13038 ± 759	24,2 ± 2,5
7-е сутки после оперативного лечения (n = 55)	656,0 ± 38,7*	893 ± 78*	1235 ± 123*	8145 ± 368*	16,9 ± 2,5

Примечание: * — достоверно отличается от содержания изучаемого показателя в 1-е сутки послеоперационного периода ($p < 0,05$).

сточно ($p < 0,05$), в 1,4 раза, снизилась относительно данных, полученных в 1-е сутки послеоперационного лечения, и достоверно не отличалась от величины показателя до оперативного лечения, однако оставалась достоверно ($p < 0,01$), более чем в 10 раз, выше, чем в контрольной группе. Концентрация ИЛ-8 в лимфе в указанный послеоперационный период была достоверно ($p < 0,05$), в 1,65 раза, ниже, чем в первые сутки послеоперационного периода.

При определении содержания полифункционального белка лактоферрина обнаружено, что в сыворотке крови пациенток в 1-е сутки после оперативного лечения оно было в 2,4 раза выше, чем у женщин контрольной группы ($p < 0,01$). При сравнении значений изучаемых показателей было установлено, что концентрация лактоферрина в сыворотке крови в 1-е сутки после проведения операции в 1,6 раза ($p < 0,05$) превышает его содержание до оперативного лечения, будучи в раневом отделяемом достоверно ($p < 0,05$), в 4,8 раза, выше, чем в сыворотке крови. Содержание лактоферрина в сыворотке крови на 7-е сутки после оперативного лечения статистически значимо ($p < 0,05$), в 1,8 раза, снизилось относительно данных, полученных в 1-е сутки послеоперационного лечения, и достоверно не отличалось от содержания этого острофазового белка до оперативного лечения, однако оставалось достоверно ($p < 0,05$), более чем в 1,3 раза, выше, чем в сыворотке крови женщин контрольной группы. Концентрация лактоферрина в лимфе на 7-е сутки после радикальной мастэктомии была достоверно ($p < 0,05$), в 1,6 раза, ниже, чем в первые сутки послеоперационного периода.

Определение таких маркеров клеточной деструкции, как аутоантитела к антигенам нативной ДНК (ААТ к АГ нДНК), в сыворотке крови пациенток в 1-е сутки после радикальной мастэктомии позволило зафиксировать, что их содержание в 3,17 раза превышало значение аналогичного показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ($p < 0,01$). При сравнении значений изучаемых показателей было установлено, что концентрации ААТ к АГ нДНК в сыворотке крови в 1-е сутки после проведения операции в 1,29 раза выше, чем до оперативного лечения, однако данное различие не было статистически значимым. Содержание ААТ к АГ нДНК в раневом отделяемом было достоверно ($p < 0,05$), в 3,1 раза, ниже, чем в сыворотке крови. Уровень ААТ к АГ нДНК в сыворотке крови на 7-е сутки после оперативного лечения в 1,45 раза снизился относительно данных, полученных в 1-е сутки послеоперационного лечения, но достоверно от них не отличался, так же, как и от значения до оперативного лечения, однако оставался достоверно ($p < 0,05$), более чем в 2,2 раза, выше, чем содержание ААТ к АГ нДНК в контрольной группе.

В сыворотке крови пациенток после оперативного лечения, аналогично состоянию до проведе-

ния операции, были выявлены прямые достоверные взаимосвязи между концентрациями ИЛ-6 и ИЛ-8 ($r = 0,48$, $p < 0,05$), ИЛ-6 и полифункционального белка лактоферрина ($r = 0,41$, $p < 0,05$), ИЛ-8 и лактоферрина ($r = 0,4$, $p < 0,39$). Указанные взаимосвязи свидетельствуют о корпоративном участии биологически активных веществ, обладающих провоспалительной активностью, в развитии деструктивно-воспалительного процесса в послеоперационном периоде у пациенток с онкологической патологией.

Кроме того, были обнаружены прямые достоверные корреляции между концентрациями ряда изучаемых показателей в сыворотке крови и лимфе: ИЛ-6 ($r = 0,63$, $p < 0,05$), ИЛ-8 ($r = 0,45$, $p < 0,05$) и ААТ к АГ нДНК ($r = 0,48$, $p < 0,05$). Указанные взаимосвязи свидетельствуют о взаимозависимости в развитии иммунно-воспалительного ответа на деструкцию тканей на системном и местном уровнях в послеоперационном периоде у пациенток после радикальной мастэктомии.

Заключение

В результате проведенного исследования было показано, что в первые сутки послеоперационного периода у пациенток отмечается достоверное нарастание концентраций ИЛ-2, ИЛ-6, лактоферрина и тенденция к повышению содержания ИЛ-8 и ААТ к АГ нДНК в сыворотке крови. Полученные данные свидетельствуют, что после радикальной мастэктомии у обследованных женщин происходит активация иммунно-воспалительного ответа. Обнаружено, что содержание ИЛ-2 в раневом отделяемом достоверно выше, чем в сыворотке крови, в 4,25 раза, ИЛ-6 – в 4,7 раза, ИЛ-8 – в 3,75 раза и лактоферрина – в 4,8 раза. Полученные данные позволяют сделать вывод о значительной выраженности у обследованных женщин на первые сутки послеоперационного периода местных проявлений иммунно-воспалительного ответа на деструкцию тканей. Данные корреляционного анализа, позволившие выявить взаимосвязи между содержанием ИЛ-6 ($r = 0,63$, $p < 0,05$), ИЛ-8 ($r = 0,45$, $p < 0,05$) и ААТ к АГ нДНК ($r = 0,48$, $p < 0,05$) в сыворотке крови и лимфе, свидетельствуют о взаимосвязи развития иммунно-воспалительного ответа на деструкцию тканей на системном и местном уровнях.

В исследовании показано, что на 7-е сутки послеоперационного периода происходит уменьшение содержания биологически активных веществ, обладающих провоспалительными свойствами (ИЛ-6, ИЛ-8, лактоферрин), однако оно незначительно выражено. О сохранении активности иммунно-воспалительного процесса также свидетельствуют достоверно высокие концентрации ААТ к АГ нДНК в сыворотке крови пациенток на 7-е сутки послеоперационного периода. Таким образом, у пациенток после радикальной мастэктомии в ближайшем послеоперационном периоде на фоне продолжающейся лимфореи развиваются как системные, так и более выраженные

местные нарушения иммунного статуса. Следовательно, можно предположить, что местный иммунно-воспалительный ответ может оказывать влияние на длительность лимфореи.

Список литературы

1. Аблицова Н.В. Лечебная тактика при первично-множественном раке молочной железы : автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009.

Ablitsova N.V. Therapeutic tactics in primary-multiple cancer of the breast: abstract of thesis...candidate of medical sciences. M., 2009.

2. ASCO Инновационные методы борьбы с онкологическими заболеваниями // Соврем. онкология. 2008. (2). 4–6.

ASCO Innovative methods of cancer treatment // Sovrem. onkologiya. 2008. (2). 4–6.

3. Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П. Рак молочной железы: современные принципы диагностики и комплексной терапии. Саратов, 2008. 309 с.

Barsukov V.Yu., Plokhov V.N., Chesnokova N.P. Breast cancer: modern principles of diagnosis and complex therapy. Saratov, 2008. 309 p.

4. Борисов А.П. Лимфорея как раннее послеоперационное осложнение рака молочной желе-

зы // Паллиативная медицина и реабилитация. 2004. (2). 62.

Borisov A.P. Chylorrhea as an early postoperative complication of breast cancer // Palliativnaya meditsina i reabilitatsiya. 2004. (2). 62.

5. Дорошенко А.В., Гарбуков Е.Ю., Кокорина Ю.Л., Тарабановская Н.А. Влияние различных видов органосохраняющих операций на длительность лимфореи у больных раком молочной железы // Сиб. онкол. журн. 2008. (S1). 41.

Doroshenko A.V., Garbukov E.Yu., Kokorina Yu.L., Tarabanovskaya N.A. Influence of different types of organ operations on the duration of limforrei in patients with breast cancer // Sib. onkol. zhurn. 2008. (S1). 41.

6. Ганцев Ш.Х. Руководство к практическим занятиям по онкологии: учеб. пособие. М.: МИА, 2007. 416 с.

Gantsev Sh.Kh. Guidelines to practical training in oncology: manual. M.: MIA, 2007. 416 p.

7. Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли // Онкология. 2009. (1). 6–17.

Berezhnaya N.M. The role of immune system cells in the microenvironment of the tumor // Onkologiya. 2009. (1). 6–17.

CHANGES IN LOCAL AND SYSTEM IMMUNE-INFLAMMATORY RESPONSE IN THE IMMEDIATE POSTOPERATIVE PERIOD IN PATIENTS AFTER RADICAL MASTECTOMY

Mikhail Semenovich LYUBARSKY¹, Olga Anatol'evna TKACHUK², Vladimir Evgen'evich VOYTSITSKY², Yuri Emmanuilovich NAROV², Vadim Valer'evich NIMAEV¹, Vladimir Iosifovich KONENKOV¹

¹Institute of Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

²Novosibirsk State Medical University of Roszdrav
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

The laboratory criteria for characterizing the severity and dynamics of the course of endotoxemia in the immediate postoperative period in patients after radical mastectomy, including an assessment of the content of certain immunological parameters (interleukin-2, interleukin-6, interleukin-8, lactoferrin and native DNA) in serum and wound discharge (lymph) has been studied. For the first time the immunologic study of wound discharge (lymph) from under the flap after radical mastectomy has been carried out.

Key words: mastectomy, interleukin, native DNA, lactoferrin.

Lyubarsky M.S. — doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAMS,

Honored doctor of the RF, deputy director; e-mail: ponomareva@soramn.ru

Tkachuk O.A. — assistant of the chair for oncology; e-mail: naiz@rambler.ru

Voytsitsky V.E. — doctor of medical sciences, professor of the chair for oncology, deputy chief doctor of medical ward

Narov Y.E. — doctor of medical sciences, professor, head of the chair for oncology,

Honored doctor of the RF, chief physician

Nimaev V.V. — doctor of medical sciences, head of the laboratory for surgical lymphology; e-mail: nimaev@gmail.com

Konenkov V.I. — doctor of medical sciences, professor, academician of RAMS, director; e-mail: konenkov@soramn.ru