

**ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И РАННЯЯ
ДИАГНОСТИКА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ
ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**

Беляев А.М., Белоусова Т.А., Раскин Г.А., Галунова Т.Ю.

ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

197758 г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская д.68

Tania.belousova@mail.ru

В статье приводятся данные микробиологического мониторинга, иммуноцитохимического определения толл-подобных рецепторов перитонеального выпота в послеоперационном периоде у больных колоректальным раком. Показана целесообразность выполнения посевов перитонеального выпота и определения толл-подобных рецепторов для прогнозирования инфекционных осложнений после операции у больных колоректальным раком.

Ключевые слова: колоректальный рак, толл-подобный рецептор, микробиологический мониторинг, ранняя диагностика, послеоперационные инфекционные осложнения.

**PROGNOSTIC FACTORS AND EARLY DIAGNOSIS OF POSTOPERATIVE
INFECTIOUS COMPLICATIONS IN COLORECTAL CANCER PATIENTS**

Belyaev AM, Belousov TA, Raskin, GA, T. Galunova

Institute of Oncology N.N. Petrov

197758 St. Petersburg, v. Pesochonii, st. Leningradskaya d.68

Tania.belousova @ mail.ru

In the article there are data of microbiological monitoring, immunocytochemical determination of toll-like receptors peritoneal exudate in the postoperative period in patients with colorectal cancer. The article shows the expediency of the microbiological studies peritoneal exudate and definitions toll-like receptors for prediction of infectious complications after surgery in patients with colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer, toll-like receptor, microbiological monitoring, early diagnosis, postoperative infectious complications.

Актуальность исследования. Инфекционные осложнения у больных, оперированных по поводу колоректального рака, развиваются в 21% случаев. Изучив результаты лечения 36 315 пациентов после оперативного лечения рака прямой кишки с

1990 по 2008 годы Paun B.C., Cassie S. et al. показали, что в структуре осложнений преобладают поверхностные раневые инфекции, но наибольшую опасность представляют глубокие инфекции и сепсис [5].

Согласно специальной шкале Colorectal-POSSUM Scoring (CR-POSSUM), применяемой для оценки риска смертельного исхода после оперативного лечения колоректального рака, наличие инфекционного процесса в брюшной полости в виде локального нагноения или разлитого перитонита является важнейшим фактором, определяющим высокий риск смертельного исхода. Особое значение эта проблема приобретает при лечении онкологических больных, имеющих глубокие нарушения иммунитета и ослабленных длительным течением заболевания.

В исследованиях Jules Hoffmann и Bruse Beutler обнаружены специфические (толл-рецепторы) рецепторы на наружной поверхности мембран макрофагов и лимфоцитов, которые активируются уже при первом контакте с инфекционным агентом и оказывают решающее влияние на формирование ответных иммунных реакций [1,2,3] Это позволяет рассматривать методику определения толл-рецепторов как возможный способ оценки активности инфекционного процесса, прогнозировать его течение, а также использовать для ранней диагностики послеоперационных инфекционных осложнений и больных колоректальным раком [4].

Поэтому нами была поставлена **цель исследования**: поиск прогностических признаков и способов ранней диагностики послеоперационных инфекционных осложнений у больных колоректальным раком для улучшения результатов лечения.

Задачи исследования:

- 1) Адаптировать методику определения толл-рецепторов к клиническим ситуациям послеоперационного ведения больных.
- 2) Изучить состояние толл-подобных рецепторов у пациентов с колоректальным раком при неосложненном послеоперационном течении и при инфекционных осложнениях послеоперационного периода.
- 3) Оценить взаимосвязь между активностью толл-рецепторов, стадией заболевания и тяжестью послеоперационных инфекционных осложнений.
- 4) Изучить динамику результатов микробиологических и специальных исследований при благополучном и осложненном послеоперационном течении.

- 5) Обосновать практические рекомендации по прогнозированию и ранней диагностике послеоперационных инфекционных осложнений у больных колоректальным раком.

Содержание работы

Объект и методики исследования

В исследование включены 130 пациентов, прооперированных по поводу колоректального рака в клинике НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова с января 2011 года по декабрь 2011 года. Характеристика больных представлена в таблице 1.

У большинства больных выполнены открытые операции - 107 пациентов (82,3 %), видеоассистированные - у 23 больных (17,7 %). Оперативное лечение по поводу рака ободочной и сигмовидной кишки получили 73 больных (56,2 %), по поводу рака прямой кишки – 57 больных (43,8%); мужчин в исследовании было 52 (40%), женщин – 78 (60%).

Таблица 1

Характеристика больных, включенных в исследование

Характеристика	Число больных n=130
Возраст:	
27 – 40	7 (5,4 %)
41 – 50	9 (6,9 %)
51 – 60	40 (30,8 %)
61 – 70	46 (35,4 %)
71 – 80	28 (21,5 %)
> 81 г.	7 (5,6 %)
Стадия заболевания:	
I	12,2 %
II	29,7 %
III	36,5 %
IV	21,6 %

Больные колоректальным раком в возрасте от 61 до 70 лет (35,4%) и от 50 до 60 лет (30,8%) составили большую часть от числа оперированных пациентов, и были оперированны в основном в третьей стадии заболевания (таблица 1).

Всем пациентам проводили периоперационную антибиотикопрофилактику цефалоспоридами III поколения – цефтриаксоном или цефотаксимом 2 грамма внутривенно за 30-40 минут до операции. В послеоперационном периоде назначали цефотаксим 1 грамм 2 раза в сутки внутримышечно 5 дней и метронидазол 500 мг 2 раза в сутки внутримышечно 5 дней.

Методы исследования

Микробиологический метод. Микробиологическое исследование отделяемого по дренажам из брюшной полости и малого таза выполняли всем пациентам. В зависимости от сроков операции забор материала производили с 1-х по 5-е сутки. Исключение составляли дни, которые приходились на субботу и воскресенье, когда забор материала не производили. Результаты посева на 3-е сутки были получены у 99 пациентов, у 31 больного посев именно на 3-е сутки отсутствовал, но мы располагали нужными результатами от 2-х или 4-х суток.

Видовую идентификацию микроорганизмов и определение чувствительности к антимикробным препаратам осуществляли на микробиологическом анализаторе autoScan 4 (SIEMENS, США).

Метод жидкостной цитологии. Жидкостную цитологию проводили у 42 пациентов интраоперационно и в послеоперационном периоде. Интраоперационно получали смыв с брюшины после формирования анастомоза и завершения «грязного» этапа операции. Интраоперационный смыв производили глюкозо-солевым раствором Хенкса в объеме 400 мл.

В послеоперационном периоде жидкостная цитология отделяемого по дренажам из брюшной полости была выполнена на 1-е, 2-е, 3-е, 4-е и 5-е сутки. На исследования отправляли всю жидкость, эвакуированную из брюшной полости по дренажам за сутки. В случае отсутствия экссудации выполняли смыв с брюшины по дренажам глюкозо-солевым раствором Хенкса в объеме 70 мл. Количество лимфоцитов, макрофагов трактовали как малое, если обнаруживали от 10 до 100 клеток в мм², умеренное - при 100 – 300 клеток / мм² и многочисленные клетки - при превышении 300 (до 1000) клеток / мм².

Методика определения Толл-подобных рецепторов. Иммуноцитохимическое исследование перитонеального выпота на наличие или отсутствие Толл-подобных рецепторов 2-го и 4-го типов (TLR 2, TLR 4) выполнено у 42 пациентов с третьих по пятые сутки после операции.

Результат реакции считали положительным, если специфическую окраску приобретало более 10% лейкоцитов и макрофагов. Окончательный результат имел количественную характеристику: он показывал – какой процент клеток имеет активные толл-рецепторы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. При описании изменений отдельных показателей в тексте указан р-критерий достоверности различий по статистике Манна-Уитни. При описании TLR использовали дисперсионный анализ Фишера, а для описания связи TLR с инфекционными осложнениями и со степенью поражения лимфатических узлов опухолевыми клетками (N0,N1,N2) применяли ранговый дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ полученных данных основан на сравнении результатов обследования пациентов, оперированных по поводу колоректального рака, при благополучном течении послеоперационного периода, а также при возникновении инфекционных осложнений.

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕОСЛОЖНЕННОГО ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ТЕЧЕНИЯ И СОСТОЯНИЕ ТОЛЛ-РЕЦЕПТОРОВ

Послеоперационный период протекал без гнойно-воспалительных осложнений у 102 больных.

Активность Толл-рецепторов. Из 102 больных TLR 2,4 определили у 30 больных, у 15 больных рецепторы были отрицательные, у 15 больных данные рецепторы были положительные.

Таким образом, у пациентов с неосложненным послеоперационным течением в 50% случаев TLR2,4 оказывались положительными, а в 50% случаев TLR отрицательными, что первоначально заставляло усомниться в диагностической ценности изучаемого показателя.

Однако индивидуальный анализ и поиск закономерностей показал, что некоторые особенности послеоперационного течения совпали с изменениями активности TLR. В частности, повышение температуры и нарастание лейкоцитоза, сдвиг лейкоцитарной

формулы влево в 2 случаях совпали с активаций TLR2,4 типов. Однако в силу небольшого числа этих наблюдений совпадения не приобрели статистической достоверности.

Установлено, что, как число случаев с положительным результатом на толл-рецепторы, так и степень активности толл-рецепторов зависели от состояния регионарных лимфатических узлов.

В частности, из 15 больных с положительными TLR2,4 у 9 пациентов имело место поражение 1-3 лимфатических узлов (N1) с уровнем активности толл-рецепторов ниже 30% (3 пациента) и до уровня 50-70% - у 6 пациентов.

Более распространенное поражение регионарных лимфатических узлов (N2 у 6 больных) совпало с более высокой активностью TLR2,4 рецепторов. Здесь в каждом случае TLR были активны, и они выявлялись в более высокой степени активности – на уровне 50-70% от числа исследованных клеток. Ни у одного пациента с распространенностью поражения на уровне N2 не было случая отрицательной реакции на толл-рецепторы.

В противоположность этому, из 15 больных с отрицательными TLR 2,4 рецепторами, большинство (11 пациентов) - не имели каких-либо признаков поражения регионарных лимфатических узлов (N0), и только у 4 пациентов можно было диагностировать поражение на уровне N1. В данной группе больных не было зарегистрировано ни одного случая с распространением регионарного лимфогенного метастазирования до уровня N2 и выше.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСЛОЖНЕННОГО ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ТЕЧЕНИЯ И СОСТОЯНИЕ ТОЛЛ-РЕЦЕПТОРОВ

Послеоперационный период осложнился у 28 больных, что составило 21,5% от общего числа пациентов. Поверхностную раневую инфекцию – (надапоневротическое нагноение послеоперационной раны) наблюдали у 16 пациентов. Развитие глубокой инфекции отмечено у 10 пациентов: абсцесс брюшной полости (5 пациентов), абсцесс забрюшинного пространства в сочетании с нагноением послеоперационной раны и циститом (1 наблюдение), несостоятельность анастомоза с формированием абсцесса с последующим образованием толстокишечного свища (2 случая) и разлитой гнойный перитонит - также 2 случая. Острый хирургический сепсис развился у 2 больных. Летальность от инфекционных осложнений составила 1,5 % - 2 больных умерли от полиорганной недостаточности вследствие сепсиса.

Таким образом, из 130 больных поверхностную раневую инфекцию наблюдали у 12,3% больных, глубокую - у 7,7%, а сепсис - в 1,5% случаев (табл. 2).

Таблица 2.

Осложнения оперативного лечения

Осложнения	Число пациентов с осложнениями	Частота осложнений в % от общего числа больных (n = 130)
Поверхностная раневая инфекция	16	12,3 %
Абсцесс брюшной полости, перитонит	10	7,7 %
Сепсис	2	1,5 %
Итого	28	21,5%

Частота гнойно-воспалительных осложнений зависела от пола. В ситуациях неблагоприятного послеоперационного течения преобладали мужчины. Частота осложнений у них достигала 32,7%, что достоверно выше по сравнению с женщинами, у которых послеоперационный период осложнился лишь в 17,3% случаев ($p=0,04$).

Микробиологический мониторинг. Микробиологические исследования отделяемого по дренажам из зоны операции проводили всем пациентам с 1-х по 5-е сутки послеоперационного периода. Результаты посева на 3-е сутки были получены у 99 пациентов, у 31 больного посев именно на 3-е сутки отсутствовал, но мы располагали

нужными результатами от 2-х или 4-х суток. Забор материала прекращали при благополучном течении после удаления дренажей. При возникновении инфекционных осложнений исследования продолжали до выписки пациентов из стационара. При благополучном посеве отделяемого по дренажам перитонеального выпота в 88,9% случаев послеоперационный период протекал без гнойно-воспалительных осложнений. При выделении патогенных микробов в отделяемом послеоперационный период протекал без инфекционных осложнений лишь в 44,4 % случаев (рис. 1).

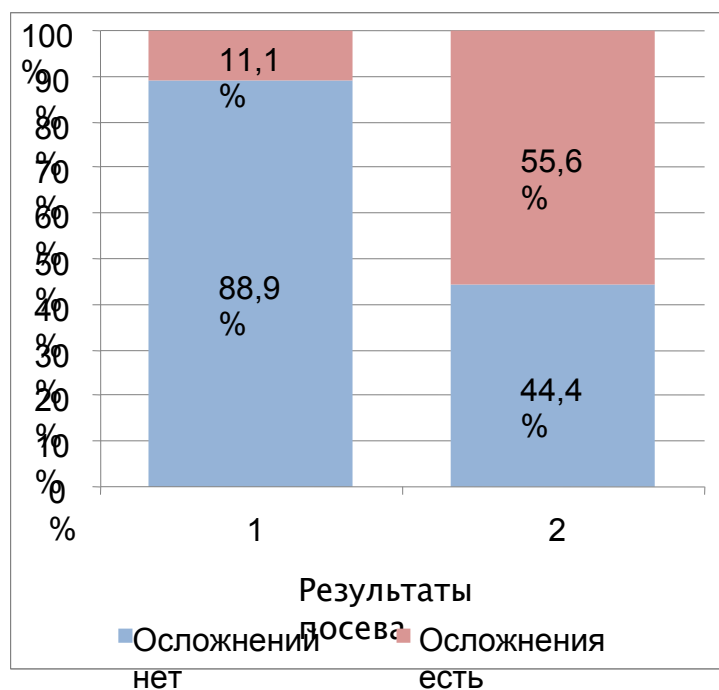


Рисунок 1. Результаты микробиологического исследования отделяемого по дренажам и частота инфекционных осложнений (n=99), $p=0,00001$.

1 – отрицательный посев, 2 – положительный посев

Несмотря на развитие осложнений при отрицательных посевах, последующие осложнения носили преимущественно легкий характер: поверхностная раневая инфекция занимала 8,3% от общего количества больных с инфекционными осложнениями и с отрицательным посевом, глубокая инфекция – абсцесс брюшной полости – только 2,8%.

При положительных посевах инфекционные осложнения носили более тяжелый характер: поверхностная раневая инфекция развилась у 22,2% больных, глубокая инфекция (абсцесс, перитонит) у 22,2% и сепсис у 11,1% больных (рис. 2). Таким образом, в любом случае обнаружение микрофлоры в отделяемом из зоны операции носит угрожающий характер.

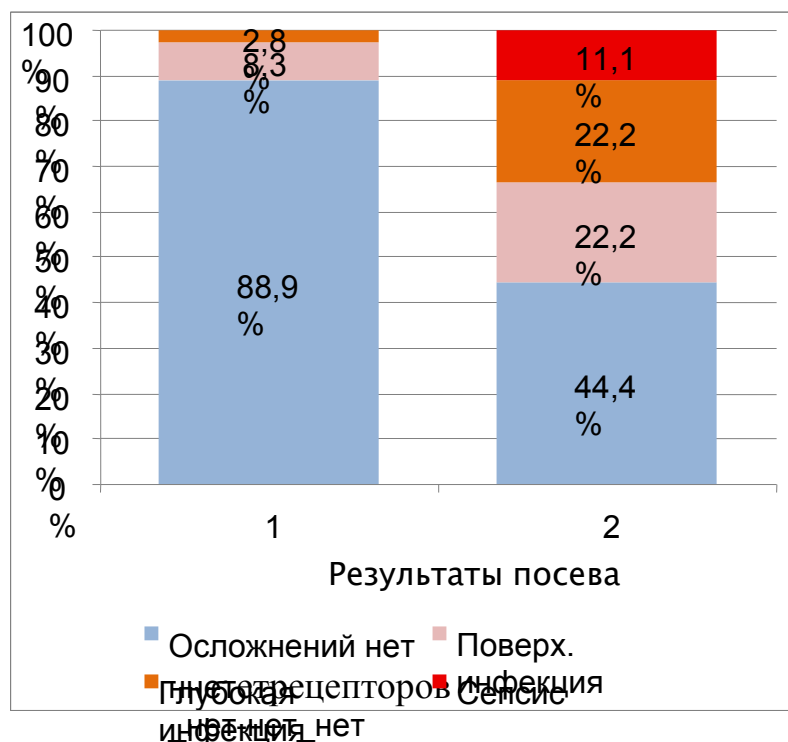


Рисунок 2. Частота и характер последующих послеоперационных осложнений в связи с результатами предварительного микробиологического исследования отделяемого по дренажам (n=99), p=0.00002.

1 – отрицательный посев; 2 – положительный посев

Микрофлора в отделяемом по дренажам из брюшной полости и малого таза в основном включала *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*

Жидкостная цитология. Известно, что присутствие большого количества нейтрофилов в 1-е и 2-е сутки после операции в исследуемых образцах затрудняет проведение иммуноцитохимической реакции. Таким образом, оптимальным сроком для определения TLR-рецепторов на поверхности макрофагов и лимфоцитов оказывался интервал от трех до пяти суток после операции.

Количественный анализ жидкостной цитологии показал, что величина цитоза может варьировать – от 10 до 2000 клеток/мм², при этом не иметь ясной направленности. Поэтому, само количество клеток не может служить прогностическим показателем будущего воспалительного процесса. Так из 16 больных с отрицательными TLR у 2-х пациентов количество лейкоцитов превышало 1000 клеток / мм² (1200 клеток / мм² у одного и 1500 клеток / мм² у второго), но ни у одного из них в послеоперационном

периоде гнойно-воспалительные осложнения не были отмечены. Напротив, у пациентов с малым количеством лейкоцитов в цитологическом препарате (менее 300 клеток / мм²), но с положительными TLR, развились гнойно-воспалительные осложнения после операции. Таким образом, информативность реакции определения активности толл-рецепторов оказалась высокой.

Толл-рецепторы. TLR2,4 определили у 12 из 28 больных с инфекционными осложнениями (43%), из этих 12 больных у 11 пациентов данные рецепторы были положительные, у 1 больного TLR2,4 были отрицательные.

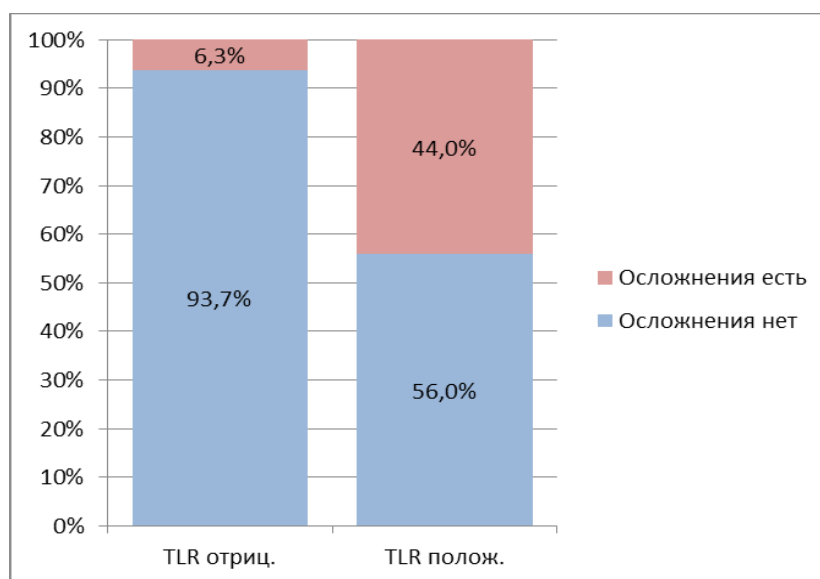


Рисунок 3. Относительная частота инфекционных осложнений у пациентов с положительной и отрицательной реакцией на толл-рецепторы в отделяемом из послеоперационных дренажей, $p=0,01$.

В целом по группе всех обследованных пациентов процент иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов, макрофагов) с положительной реакцией на TLR был разным: от 10 % до 90 %. У пациентов без гнойно-воспалительных осложнений процент позитивных клеток при иммуноцитохимическом исследовании не превышал 35%; при инфекционных осложнениях процент позитивных клеток был более 70 % (рис. 4).

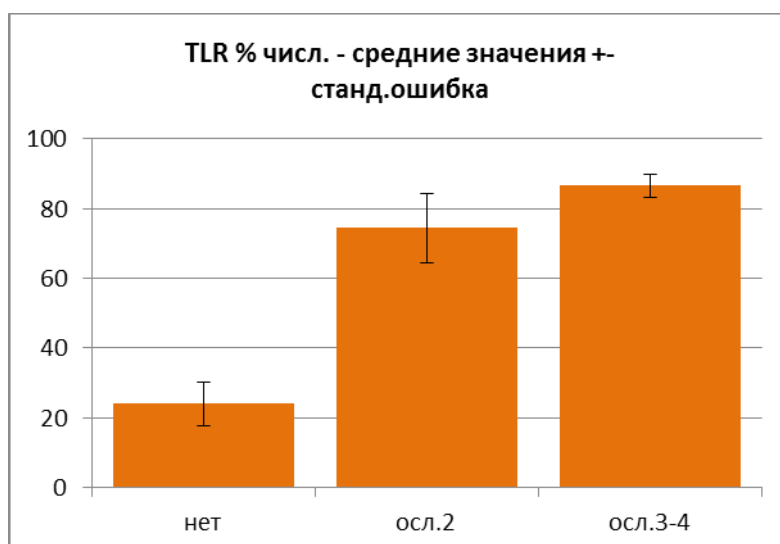


Рисунок 4. Взаимосвязь толл-подобных рецепторов (%) и степени тяжести гнойно-воспалительных осложнений, $p=0,00009$.

Сопоставление результатов реакции на толл-рецепторы и тяжести инфекционных осложнений со степенью метастатического поражения лимфатических узлов опухолевыми клетками выявило отчетливую закономерность. Так при отсутствии метастазов в регионарных лимфатических узлах (N0) положительные TLR 2,4 выявились только в 7,7 % случаев.

При поражении 1-3 лимфатических узлов (N1) TLR 2,4 были положительные у 81 % больных.

При поражении 4-х и более лимфатических узлов (N2) у всех больных отмечали положительную реакцию на TLR 2,4. Описанная закономерность представлена на рисунке 5.

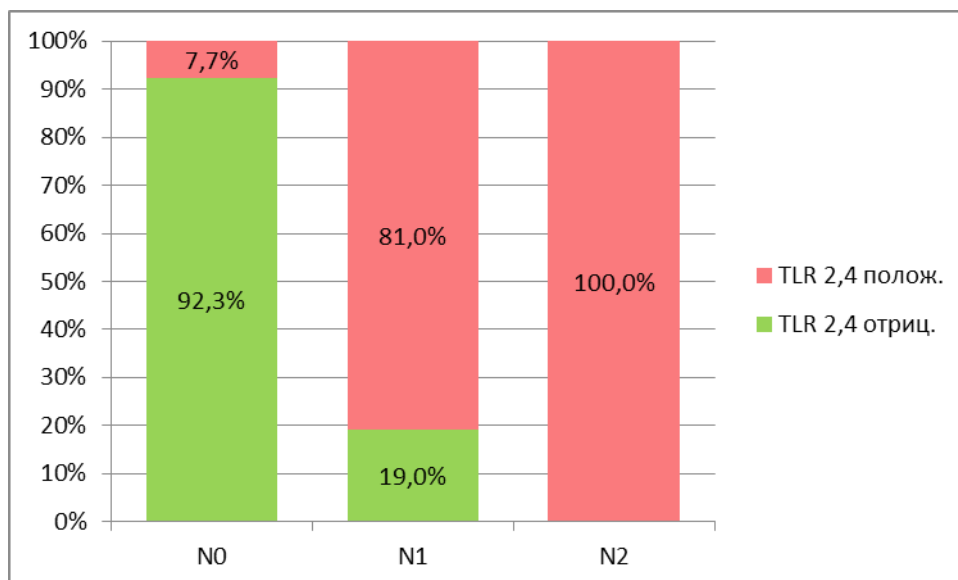


Рисунок 5. Частота положительной реакции на толл-рецепторы у пациентов с различной степенью поражения регионарных лимфатических узлов метастазами опухоли. Достоверность жесткой корреляции с $p=0,00001$.

Частота гнойно-воспалительных осложнений была выше у больных с более распространенной стадией онкологического заболевания. Наименьшая частота осложнений наблюдалась при I, II стадиях и наибольшая - при III стадии онкологического заболевания, что коррелировало со степенью поражения лимфатических узлов (рис. 6). При отсутствии метастазов в регионарных лимфатических узлах (N0) послеоперационный

период протекал без осложнений в 84% случаев, инфекционные осложнения наблюдали в 16% случаев - 12% - поверхностная раневая инфекция, 4% - глубокая инфекция (перитонит, абсцесс).

При поражении 1-3 лимфатических узлов (N1) у 74,4% больных послеоперационный период протекал без гнойно-воспалительных осложнений, в то время как у 25,6% больных наблюдали осложнения - у 14% больных отмечали поверхностную раневую инфекцию, у 11,6% - глубокую инфекцию.

При поражении 4-х и более лимфатических узлов (N2) послеоперационный период протекал без инфекционных осложнений у 62,5% больных. Наблюдали еще большее увеличение частоты гнойно-воспалительных осложнений – до 37,5% (у 12,5% больных произошло нагноение послеоперационной раны, у 12,5% глубокая инфекция и у 12,5% больных развился сепсис; рис. 6, $p=0,02$).

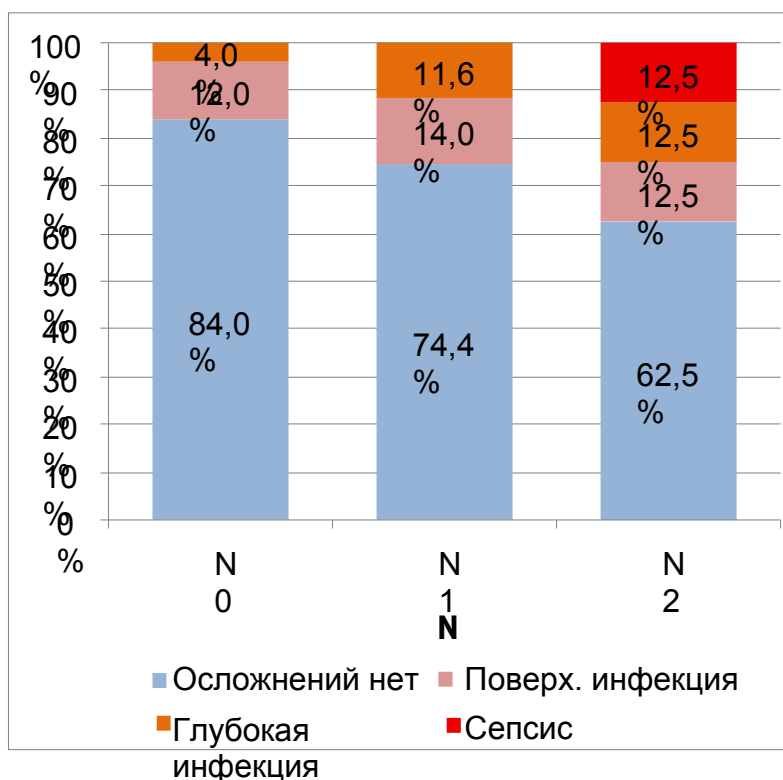


Рисунок 6. Частота осложнений. N – метастазы в лимфатические узлы, $p=0,02$.

Многофакторный анализ прогностического значения каждого из исследованных показателей показал, что возраст пациента, локализация опухоли (ободочная кишка, прямая кишка), степень инвазии опухоли (T), наличие или отсутствие отдаленных метастазов (M) и степень дифференцировки опухолевых клеток – не оказывали влияния

на развитие инфекционных осложнений у больных колоректальным раком в послеоперационном периоде.

ВЫВОДЫ

- 1) Общеклиническими факторами риска развития гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у больных колоректальным раком являются мужской пол пациента с вероятностью их клинического проявления на уровне 40 %.
- 2) Вероятность послеоперационных осложнений возрастает по мере прогрессирования онкологического заболевания с возможностью развития гнойно-некротического процесса при III стадии заболевания на уровне 79%.
- 3) Активация толл-рецепторов на поверхности макрофагов и лимфоцитов в перитонеальном экссудате свидетельствует о развитии прогрессирующей инфекционно-воспалительной реакции в зоне операции у 80% оперированных больных. При этом, в 56 % случаев инфекционный процесс при успешной антибактериальной терапии регрессирует на стадии инфильтративного воспаления.
- 4) Выявление активных толл-рецепторов 2 и 4 типов в перитонеальном экссудате на третьи сутки после операции является способом ранней диагностики развивающегося гнойно-некротического воспаления с вероятностью 44 %.
- 5) Возрастающая и высокая активность толл-рецепторов в перитонеальном экссудате на уровне 70% - 90% указывает на большую тяжесть развивающихся осложнений.
- 6) Микробиологическое исследование раневого экссудата в дренажах на третьи сутки после операции позволяет идентифицировать активную патогенную микрофлору, а также прогнозировать развитие гнойно-некротических изменений в зоне операции с вероятностью 55,6% .

Практические рекомендации

Вероятность развития послеоперационных инфекционных осложнений в больных колоректальным раком возрастает по мере прогрессирования заболевания, поэтому практическое применение методов прогнозирования и ранней диагностики позволяет своевременно корректировать лечебную тактику.

Микробиологическое и лабораторное исследование перитонеального экссудата, выделяющегося по дренажам из брюшной полости, целесообразно проводить на третьи

сутки после операции, когда получаемые результаты оказываются наиболее информативными. Микрофлора, высеваемая из отделяемого по дренажам из брюшной полости и малого таза на третьи сутки после операции, становится в дальнейшем основной причиной инфекционных осложнений, что требует ее идентификации с определением чувствительности к антибактериальным препаратам.

Определение толл-рецептов 2 и 4 типов является достоверным способом диагностики инфекционных осложнений при исследовании перитонеального экссудата на третьи сутки после операции и может служить дополнительным диагностическим тестом.

Нарастание активности толл-рецепторов на фоне уже проявившихся инфекционных осложнений свидетельствует о прогрессировании инфекции и недостаточной эффективности проводимого лечения.

Литература.

1. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling //Nat. Rev. Immunol. – 2004. – V. 4. - P. 499-511.
2. Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signaling // Nature. - 2004. – V. 430. – P. 257-263.
3. Halliman M., Ramet M., Ezekowitz R.A. Toll-like receptors as Sensors of Pathogen // Pediatric Research. - 2001. - V. 50(3). - P 315-321.
4. [Ono S](#), [Tsujiimoto H](#), [Hiraki S](#). et al. Preoperative Toll-like receptor expression in monocytes is associated with host immunological responses following gastrointestinal surgery. // [World J Surg.](#) – 2011. – V. 35(2). – P. 365-371.
5. Paun B.C., Cassie S. et al. Risk factors for postoperative complications following rectal cancer surgery. // Ann.Surgery. – 2010. – V. 251(5). – P. 807-818.