

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ПЛОВДИВ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ, КАТЕДРА СПЕЦИАЛНА ХИРУРГИЯ



Д-Р ЛЮБОМИР ДИМИТРОВ ПАУНОВ

**ПРОМЕНИ В ИМУННИЯ ОТГОВОР ПРИ
ПАЦИЕНТИ С УСЛОЖНЕНИ И НЕУСЛОЖНЕНИ
РЕЗЕКЦИИ НА БЕЛИЯ ДРОБ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за ОНС „доктор“

научна специалност „Хирургия“

Научен ръководител: проф. д-р Ангел Учиков, дмн

Пловдив 2019 г.

Дисертационният труд съдържа 159 стандартни страници, 15 таблици, 31 фигури и 17 приложения. Библиографската справка включва 183 литературни източника, от които 16 на кирилица и 167 на латиница.

Авторът работи като асистент в Катедра „Специална хирургия“ на Медицински факултет при Медицински университет – Пловдив и лекар във Втора хирургична клиника на УМБАЛ „Св. Георги“-Пловдив.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на Катедра „Специална хирургия“ на 11.06. 2019 г.

Научно жури

Председател: проф. д-р Ангел Учиков, дмн

Членове: проф. д-р Николай Ярмов, дмн; проф. д-р Красимира Икономова, дм;
проф. д-р Илия Баташки, дм; доц. д-р Георги Присадов, дм

Резервни членове: проф. д-р Виктория Сарафян, дмн; доц. д-р Ваня Узунова, дм

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 9.09.2019 г. от 11.00 часа във Втора аудитория на МУ-Пловдив, бул. „Васил Априлов“ 15А, гр. Пловдив. Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на МУ-Пловдив, бул. „В. Априлов“ 15А и на интернет сайта на МУ-Пловдив – <https://mu-plovdiv.bg/>.

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ПЛОВДИВ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ, КАТЕДРА СПЕЦИАЛНА ХИРУРГИЯ

Д-Р ЛЮБОМИР ДИМИТРОВ ПАУНОВ

**ПРОМЕНИ В ИМУННИЯ ОТГОВОР
ПРИ ПАЦИЕНТИ С УСЛОЖНЕНИ И
НЕУСЛОЖНЕНИ РЕЗЕКЦИИ НА БЕЛИЯ ДРОБ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за ОНС „доктор“

Научна специалност „ХИРУРГИЯ“

област на висше образование „Здравеопазване и спорт“

професионално направление 7.1. Медицина

Научен ръководител: проф. д-р Ангел Учиков, дмн

Пловдив 2019 г.

ВЪВЕДЕНИЕ

Оперативните интервенции върху белите дробове изискват добра техника и специфични следоперативни реанимационни мероприятия, което различава пациентите в гръдната хирургия от болните, подложени на други видове интервенции.

Спецификата на хирургичната интервенция се определя от функциите на белия дроб и възможността за остра дихателна недостатъчност, както и от последвалите я нарушения в дейността на сърдечно-съдовата система. Пациентите, подложени на белодробни операции, се лишават от паренхим, особено при карцином на белия дроб, но понякога са и имunosупресирани. Поради това са и високо-рискови за развитие на възпалителни усложнения, които могат да са живота-застрашаващи. Те възникват обикновено между 3-ти и 7-ми следоперативен ден.

Пред гръдните хирурзи винаги е стоял въпросът за профилактиката, ранната диагноза и лечението на постоперативните възпалителни усложнения при торакотомии, най-често извършвани по повод на първичен белодробен карцином. Използвани са различни маркери за прогнозиране на ранните пост-оперативни усложнения, както и възможностите за оценка на рисковите случаи (*Bata J и съавт., 1977; Brent J и съавт., 2016, 1977; Chataigner O и съавт., 2008*). През последните години в специализираната научна литература започнаха да се появяват по-често отделни публикации за ранната диагноза и възможностите за определяне на риска от развитие на подобни компликации, като се проследяват дадени показатели (*Szczesny T и съавт., 2007-A, Hildebrandt MA и съавт., 2015; Wang Q и съавт., 2015; Xu L и съавт., 2015; Saavedra D и съавт., 2016; Yankulov A и съавт., 2013*). Такива са възпалителните маркери CRP и прокалцитонин, някои цитокини, основните лимфоцитни популации на Т, В и NK клетки, както и серумните имуноглобулини А, G и М.

Липсата на комплексен подход в прогнозирането на ранните постоперативни възпалителни усложнения при пациенти с торакотомии поставя необходимостта от определяне на достатъчно информативен панел от предиктивни маркери за оценка на състоянието на болните в ранния следоперативен период. Това е основа и за адекватна терапия. Възможно е по-ранното диагностициране на постоперативните усложнения, преди тяхната клинична изява, особено при по-рискови болни, които са претърпели белодробни операции.

Предотвратяването на усложненията и навременното лечение на ранно диагностицирани такива, позволява снижаване на следоперативната смъртност и съкращаване на болничния престой. Приложените своевременно терапевтични мероприятия ще ускорят оздравителния процес и по-бързо ще стабилизируют състоянието на болния, особено при големи по обем белодробни операции.

ЦЕЛ

Да се проучат ранните следоперативни усложнения и връзката им с промените в имунния отговор при пациенти с белодробни резекции по повод на първичен белодробен карцином.

ЗАДАЧИ

1. Да се установят клиничко-епидемиологичните характеристики на изследваните пациенти по отношение на пол, възраст, обем на белодробната резекция за белодробен рак.
2. Да се анализират ранните постоперативни усложнения на включените в проучването болни след торакотомия – операбилни и иноперабилни.
3. Да се проучат пред- и след-оперативните промени в основни клинично-лабораторни показатели и възпалителни маркери - общ брой левкоцити, относителен дял на неутрофили, СУЕ, албумин, CRP и прокалцитонин 24 часа предоперативно и до 7-ми следоперативен ден при селектираните пациенти.
4. Да се изследват пред- и пост-оперативно цитокиновият профил (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-a); растежният фактор VEGF-A и адхезионната молекула ICAM-1, както и корелацията им с РПОУ.
5. За установяване на отклонения в хуморалния имунен отговор при изследвания контингент да се извърши пред- и следоперативно определяне на общите серумни имуноглобулини А, G и М.
6. Да се установят пред- и след-оперативните промени в клетъчния имунен отговор (Т, В и NK клетки) чрез флоуцитометрия и връзката им с развитие на РПОУ.
7. Да се предложи комплекс от най-значимите клинично-лабораторни и имунологични показатели за прогнозиране на възможните ранни пост-оперативни усложнения след торакотомия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Клиничен контингент (пациенти):

Обхванати са 327 пациенти с торакотомии за първичен карцином на белия дроб, пролежали във Втора хирургична клиника в УМБАЛ „Св. Георги“-Пловдив през периода 2013-2017 г. За ранни постоперативни усложнения са приети настъпилите до 7-я следоперативен ден.

Болните са включени в проучването на базата на определени критерии за селекция (табл.1).

Таблица 1. Критерии за включване на пациентите с белодробни резекции в проучването:

Критерии		За включване	За изключване
1.	Възраст	над 18 год	под 18 год. и над 85 год.
2.	Диагноза	първичен карцином на белия дроб, доказан патоанатомично	Метастатични карциноми на белия дроб, доброкачествени образувания на белия дроб, були, блебс, възпалителни белодробни процеси (туберкулоза, абсцеси и гангрени), инфекции и фебрилитет, бронхиектазии, заболявания на медиастиnum, хранопровод и диафрагма, спонтанен пневмоторакс, белодробна тромбоемболия, гръдни травми, пациенти с анамнестични, клинични и параклинични данни за имунна недостатъчност (HIV и други вторични имунни дефицити, прием на анти-възпалителни и/или имуномодулиращи лекарства, вкл. кортикостероиди и цитостатици, лъчетерапия) или автоимунни заболявания
3.	Оперативен достъп	торакотомия	VATS
4.	Съгласие с условията на изследването	Има	Без съгласие; наличие на отказ за колаборация

Болните са анализирани според:

- *пол;*
- *възраст;*
- *обем на белодробната резекция (пулмонектомия, лобектомия/билобектомия, сегментектомия, експлоративна торакотомия);*

- наличие на *ранни постоперативни усложнения*: възпалителни, невъзпалителни и екзитус леталис;
- *промени в клинично-лабораторни възпалителни показатели* - общ брой левкоцити, процент на неутрофили и лимфоцити от ДКК, СУЕ, CRP, проклатитонин, албумин;
- цитокинов профил
- серумни растежен фактор VEGF-A и адхезионна молекула ICAM-1
- *промени в някои имунологични показатели на хуморалния и клетъчния имунитет* - общи серумни имуноглобулини, лимфоцитни популации и субпопулации.

2. Дизайн на проучването

Проучването е лонгитудинално (срезово, проспективно). Част от набирането на първичните данни има известен ретроспективен характер, като събраната информация е по документален метод.

Изследването на пациентите е проведено в динамика в два етапа:

- 1-ви етап - при приема в Клиниката, 24 часа преди оперативната интервенция
- 2-ри етап - на 5-7 ден след извършената торакотомия.

При изследваните пациенти са съпоставени резултатите от пред- (I-ва проба) и постоперативното (II-ра проба) измерване на горе-посочените показатели, както и със средните референтни граници, изчислени като средна стойност от горна и долна референтна граница. Извършени са сравнения между групата на пациентите с ранни постоперативни усложнения и тази без усложнения, както и между операбилните (с пулмонектомии, лобектомии, сегментектомии) и неоперабилните болни (с експлоративни торакотомии).

3. За целите на проучването бяха използвани следните

Методи:

3.1. Хирургични, с различен обем на белодробна резекция - лобектомия, пулмонектомия, сегментектомия.

3.2. Лабораторни:

- Напълно-автоматизирани клинично-лабораторни методи за определяне на показателите на възпалението - хематологични (брой лимфоцити, процент на неутрофили и СУЕ) и биохимични (серумен албумин, CRP, прокалцитонин - PCT) в Катедрата по клинична лаборатория на МУ-Пловдив;
- Имунологични – серумни цитокини, VEGF-A, ICAM-1, общи серумни имуноглобулини и периферни кръвни лимфицити.
 - Ензимно-свързан имуно-сорбентен тест (ELISA) - за определяне на серумните нива на цитокини (IL-1, IL-6, IL-8 и IL-10; TNF-а) при 139 болни; както и васкуларния растежен фактор VEGF-A и адхезионната молекула ICAM – 1 при 135 болни.
 - Нефелометрия - за изследване на серумните имуноглобулини А, G и М (при 208 болни). Използван беше апарат нефелометър Minineph (The Binding Site, Birmingham, UK).
 - Флоуцитометрия за определяне на имунни клетки (Т, В и NK лимфоцити) от периферна кръв, пред- и постоперативно (по абсолютен брой и относителен дял).

Пробите бяха изработени с флоуцитометър FACSCanto II, BD (Becton Dickinson), New Jersey, US) с три лазера за отчитане на клетъчни параметри по 6 цвята. Използвани бяха флуоресцентно маркирани моноклонални антитела (mAbs) срещу антигени на човешки левкоцити от Мултитест 6-цветен TBNK панел (CD3^F/ CD4^{PE-Cy7}/CD8^{APC-Cy7}/CD16 + CD56^{PE}/CD19^{APC}/ CD45^{PerCP} с BD Trucount™ епруветки (BD Biosciences, U.S). Използвани бяха и стандарти за флоуцитометрия, които гарантираха правилното функциониране на апарата и възпроизводимостта на измерванията: BD FACS 7-Color Setup Beads за калибриране на флоуцитометър FACS Canto II.

Всички имунологични изследвания бяха направени в Научно-изследователския център по имунология на база Катедрата по Микробиология и Имунология при МУ-Пловдив, а финансирането на изследванията беше осигурено от одобрен вътреуниверситетски проект на МУ-Пловдив 03/2011 .

3.3. Статистически – използвани бяха методи от описателната статистика, както и аналитични такива.

- Параметрични методи:
 - Вариационен анализ – при описание на количествени показатели (признаци);
 - Алтернативен анализ – при качествени величини, представени чрез абсолютни честоти и относителните дялове;
 - t- критерий на Student (independent sample t-test) – за сравнение между две независими извадки с количествени променливи.
- Непараметрични методи
 - χ^2 анализ (Chi-squared test) – за установяване на зависимости между качествени променливи. Там, където не бяха изпълнени условията за приложението му, се използваше: при четирикратни таблици - Fisher's Exact Test и при многократни таблици - Likelihood Ratio (LR).
 - За проверка на нормалността на разпределението беше използван тестът на Колмогоров-Смирнов.
 - u-критерият на Mann-Whitney - при съпоставка на количествени величини при независими извадки с разпределение различно от нормалното.
 - Тест на Kruskal-Wallis – при съпоставяне на повече от 2 независими извадки с разпределение на данните различно от нормалното (аналог на параметричния дисперсионен анализ).
- Корелационен анализ – за оценка на зависимостта между отделни променливи: с коефициент на Спирмън (r_s)

Резултатите бяха обработени със статистически програмен продукт SPSS, 19.0 Ver. и са представени като средна стойност със стандартно отклонение ($\bar{X} \pm SD$), медиана (M); средна грешка (SEM); средна разлика (mean difference), статистическа значимост (p и r_s). Като статистически достоверни бяха приемани стойностите на ниво ниво на значимост на нулевата хипотеза $P < 0.05$, с гаранционна вероятност по-голяма от 0.95 (95% интервал на доверителност).

3.4. Графични методи – за нагледно представяне на резултатите използвахме отново SPSS 19.0 и Microsoft Excel.

РЕЗУЛТАТИ

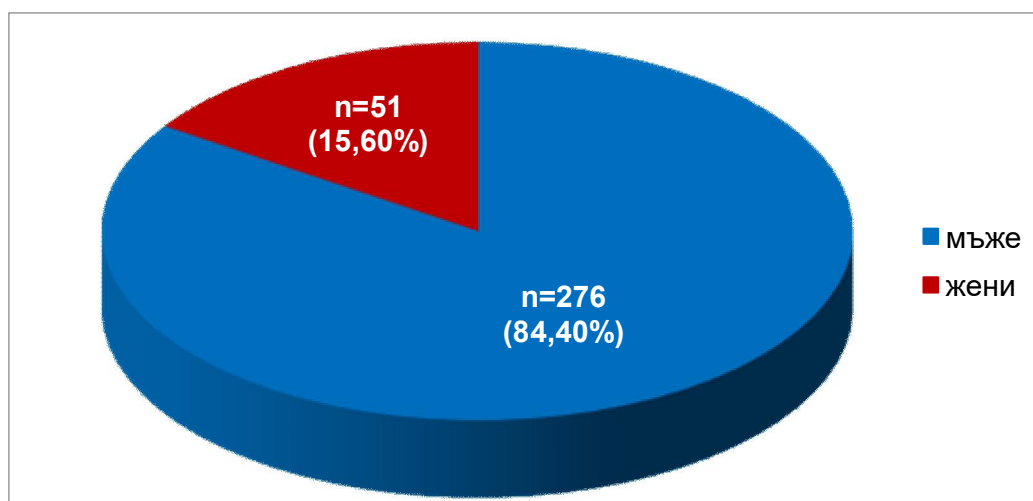
1. Клинико-епидемиологични характеристики на изследваните болни с торакотомии за първичен белодробен карцином

1.1. Разпределение на анализираните болни с торакотомии по възраст и пол

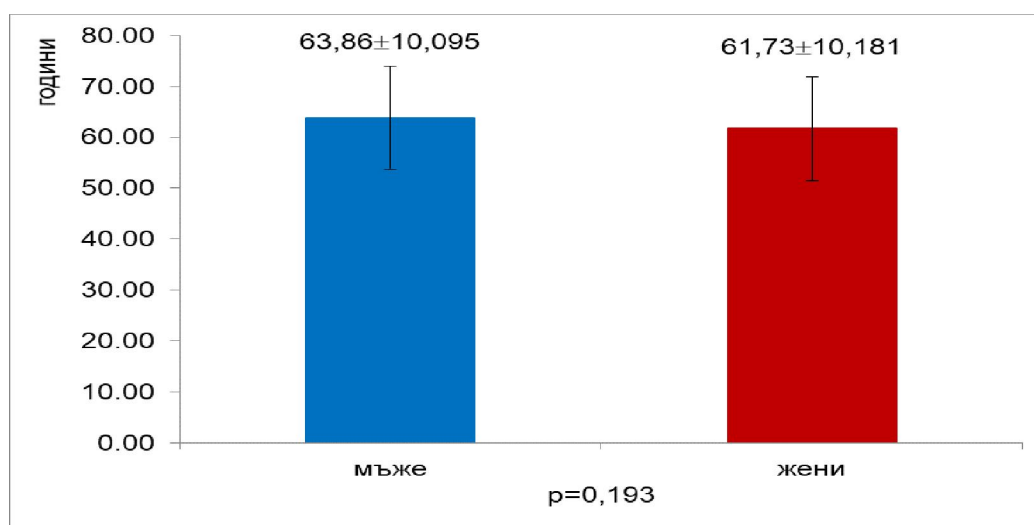
Средната възраст на пациентите с белодробен карцином и извършени резекции на белия дроб е 63.58 ± 10.12 год., като най-младият е на 37 години, а най-възрастният - на 83 години.

От общо 327 включени в проучването пациенти, 276 (84.4 %) са мъже и 51 (15.6 %) – жени (фиг. 1). Мъжете са средно с 2.13 години по-възрастни от жените (фиг 2). Намерената възрастова разлика между двата пола не е статистически значима - $p > 0.05$.

Фиг. 1. Разпределение на изследваните пациенти по пол



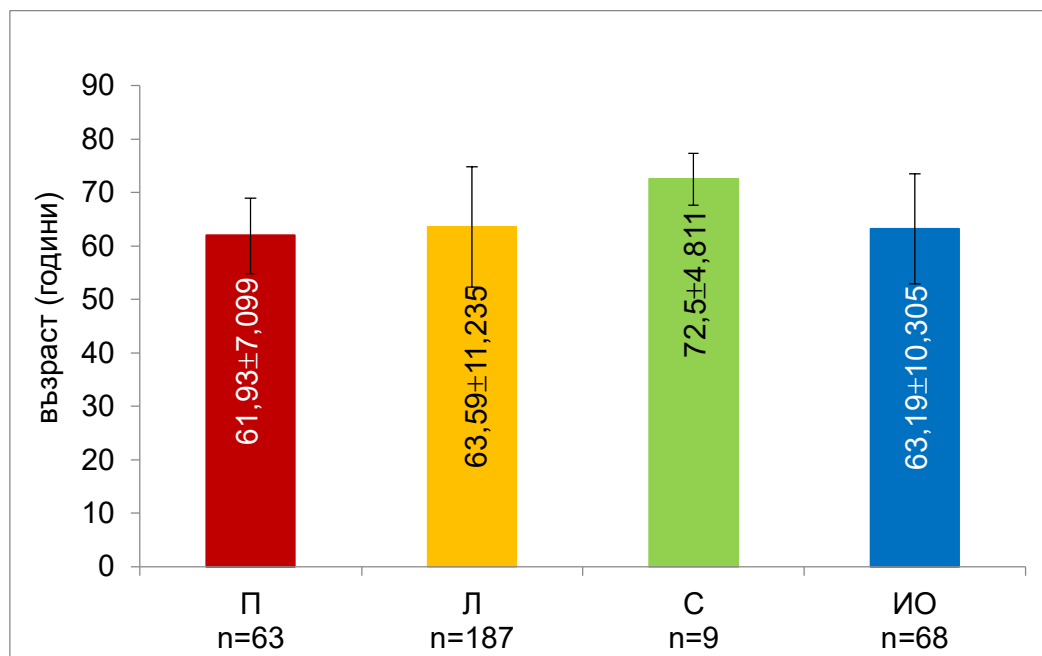
Фиг. 2. Съпоставка на възрастта при двата пола с торакотомии



1.2. Разпределение на пациентите с белодробен карцином според обема на белодробната резекция

На фиг. 3 е представена средната възраст на пациентите с белодробен карцином, групирани в зависимост от обема на операцията. Болните са групово структурирани основно на операбилни и иноперабилни. Операбилните включват случаи с пулмонектомии (П) – 63 (19.3%), лобектомии (Л) – 187 (57.2%) и сегментектомии (С) – 9 (2.7%). Иноперабилните болни (ИО) в настоящата разработка са 68 случая и представляват 20.8% от наблюдаваната извадка, а общо операбилните пациенти са 259 (79.2%) от всички изследвани. Установи се, че най-възрастните пациенти са със сегментектомии – 72.50 ± 4.81 год., а най-млади са пациентите, на които е извършена пулмонектомия – 61.93 ± 7.10 год. Останалите случаи, при които е извършена лобектомия (63.59 ± 11.24 год.), и иноперабилните болни (63.19 ± 10.31 год.) са със сходна възраст. Общото намерено междугрупово различие е статистически значимо при 90 % достоверност на резултатите ($\chi^2=2.533$, $p=0.057$).

Фиг. 3. Разпределение на пациентите с белодробен карцином според обема на хирургичната интервенция и средната възраст



При анализа на множествените междугрупови сравнения на средната възраст при пациентите с белодробен карцином в зависимост от обема на проведената операция се установи, че най-голямото възрастово различие се отчита между случаите, на които са направени сегментектомии и тези с пулмонектомии – разликата е 10.57 години ($p=0.077$), следвано от възрастовото различие между сегментектомирани и иноперабилни болни – 9.313 години ($p=0.016$). Възрастовата разлика между случаите със сегментектомии и лобектомии е 8.91 години ($p=0.017$). Изброените различия са

статистически изразими - $p < 0.05$. Останалите констатирани междугрупови различия за този показател не са сигнификантни ($p > 0.05$).

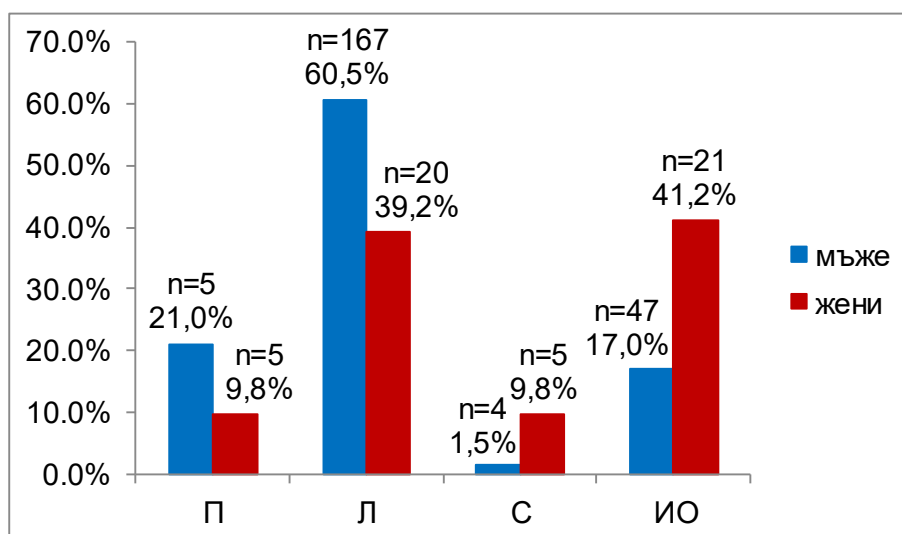
Средната възраст между иноперабилните и операбилните болни е съпоставена в таблица 2. Установи се, че така обособените две групи са с напълно сходна средна възраст, като отчетената разлика (0.30 години) е статистически незначима ($p = 0.836$).

Таблица 2. Средна разлика във възрастта между иноперабилните и операбилните пациенти

Пациенти	Брой	Средна възраст в години	Станд. Отклонени е SD	u	p	Средна разлика в години
Иноперабилни болни	68	63,19	10,305	-0,207	0,836	-0,303
Операбилни болни	259	63,49	10,312			

На фиг. 4 са представени видовете хирургични интервенции, проведени при двата пола. Случаите с пулмонектомии и лобектомии са значително по-чести при мъжете, отколкото при жените. Намерената междугрупова разлика в съпоставяните относителни дялове е в полза на мъжете: при пулмонектомиите е 11.2 %, а при лобектомиите е 21.3 %. Болните със сегментектомии и иноперабилните пациенти са значително повече в относителен дял при жените, отколкото при мъжете, като процентът на междуполовата разликата при иноперабилните пациенти е 24.2 %. Междугруповото различие, констатирано при двата пола в зависимост от вида на проведената хирургична интервенция, е статистически значимо ($p = 0.001$, $LR = 15,828$).

Фиг. 4. Видове белодробни резекции при торакотомии на пациентите с белодробен карцином при двата пола



2. Ранни постоперативни усложнения (РПОУ) при пациенти с торакотомии

2.1. Честота на РПОУ

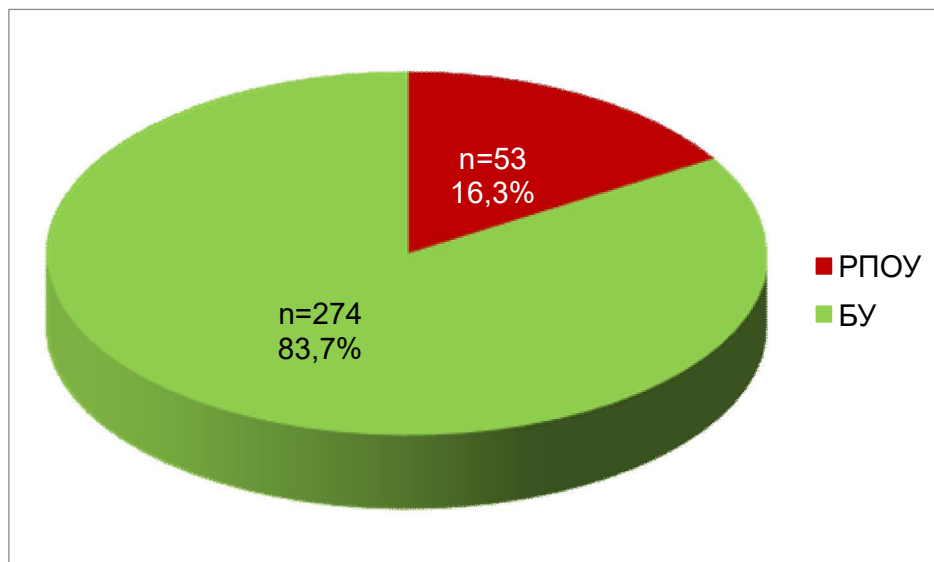
В нашето изследване торакотомияните пациенти, при които се установиха пост-оперативни усложнения, са 53 (16.3 %) от всички включени в проучването, а при 274 (83.7 %) липсват такива усложнения (фиг.5).

Преобладават възпалителните усложнения - те са общо 29 (8.9 %), а невъзпалителните се срещат при 16 (4.9 %) от случаите (фиг. 6).

На таблица 3 са представени подробно видовете усложнения при пациентите с извършени торакотомии с белодробен карцином. Регистрираните видове усложнения са: възпалителни - супурация на оперативната рана при 13 (4 %), хидроторакс - при 8 (2.5%), емпием при 5 (1.5%), следоперативна пневмония и/или фебрилитет при 3 (0.9%); невъзпалителни - ателектаза при 8 (2.5%); подкожен емфизем и парциален пневмоторакс - съответно при 2 (0,6%) и хемоторакс - при 4 (1.2 %) болни. Настъпил екзитус леталис се констатира при 8 (2.5 %) от наблюдаваните пациенти поради сърдечна декомпенсация.

Микробиологичните изследвания от супуриралата оперативна рана доказаха предимно Грам отрицателни бактерии в 8 от 13 случая (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*). Един от изолатите - *Pseudomonas putida*, е първият в страната доказан продуцент на VIM-5 метало-бета-лактамаза. Той е установен от ранева инфекция на жена 59 г., хоспитализирана в клиниката. Щамът се изяви като резистентен към цялата бета-лактамна група, включително към карбапенемите и беше със съхранена чувствителност само към тобрамицин и колистин.

Фиг. 5. Ранни постоперативни усложнения (РПОУ) при пациенти с торакотомии за белодробен рак



Фиг. 6. Групирани постоперативни усложнения при пациентите с белодробен карцином и торакотомии

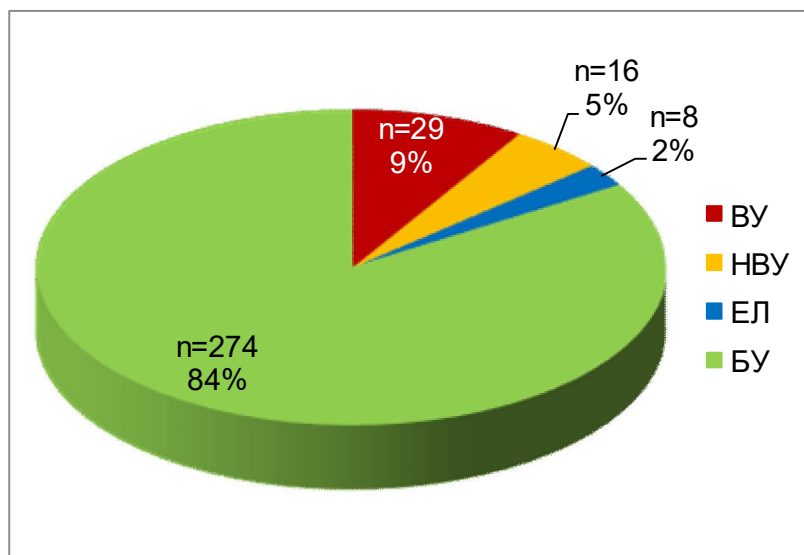


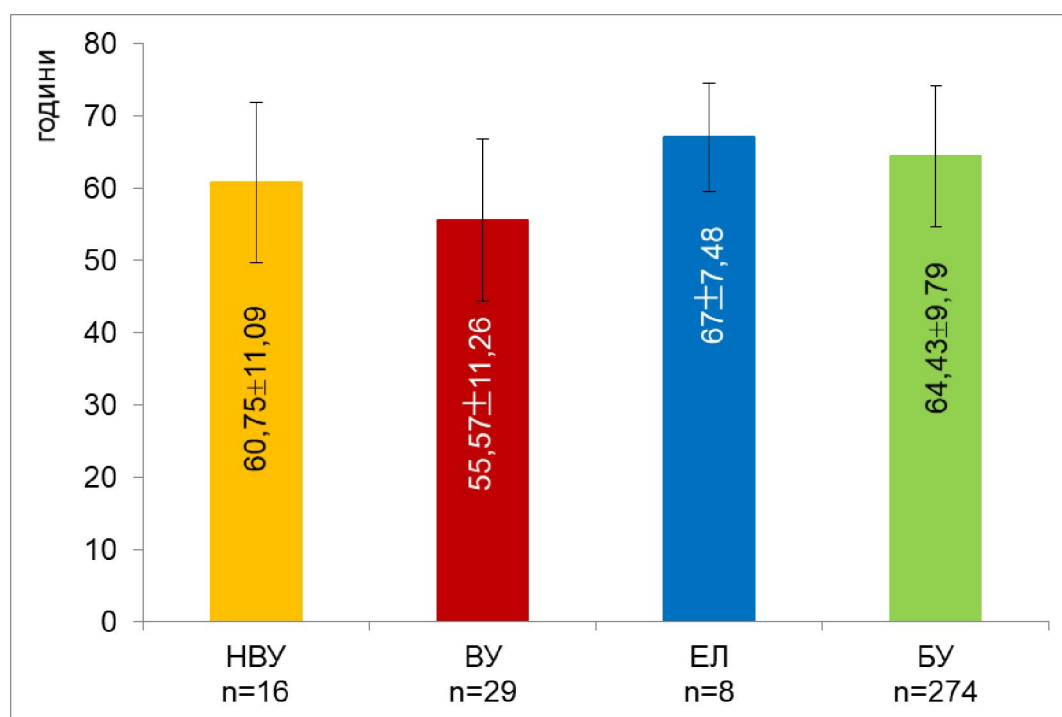
Таблица 3. Видове усложнения (подробно представени) при пациентите с белодробен карцином

Усложнения	Брой	Процент
I. Няма усложнения	274	83,7
II. Възпалителни:		
супурация на оперативната рана	13	4
емпием	5	1,5
хидроторакс	8	2,5
следоперативна пневмония, фебрилитет	3	0,9
III. Невъзпалителни:		
ателектаза	8	2,5
подкожен емфизем	2	0,6
парциален пневмоторакс	2	0,6
хемоторакс/следоперативно кървене	4	1,2
IV. Екзитус леталис	8	2,5
ОБЩО	327	100,0

2.2. Възрастта като фактор за развитие на ранни пост-оперативни усложнения

Средната възраст на пациентите, групирани според вида на настъпилите постоперативни усложнения, е представена на фиг. 7. Доказва се, че най-възрастни са починалите пациенти – средно на 67 ± 7.48 год., а най-млади са пациентите с възпалителни усложнения – 55.57 ± 11.26 год. Случаите с невъзпалителни усложнения са на средна възраст 60.75 ± 11.09 год., а пациентите без усложнения са на средна възраст 64.43 ± 9.79 год. Намереното междугрупово различие на средната възраст в зависимост от постоперативните усложнения е ясно изразено и е статистическо значимо ($X^2=7.313$, $p=0.000$).

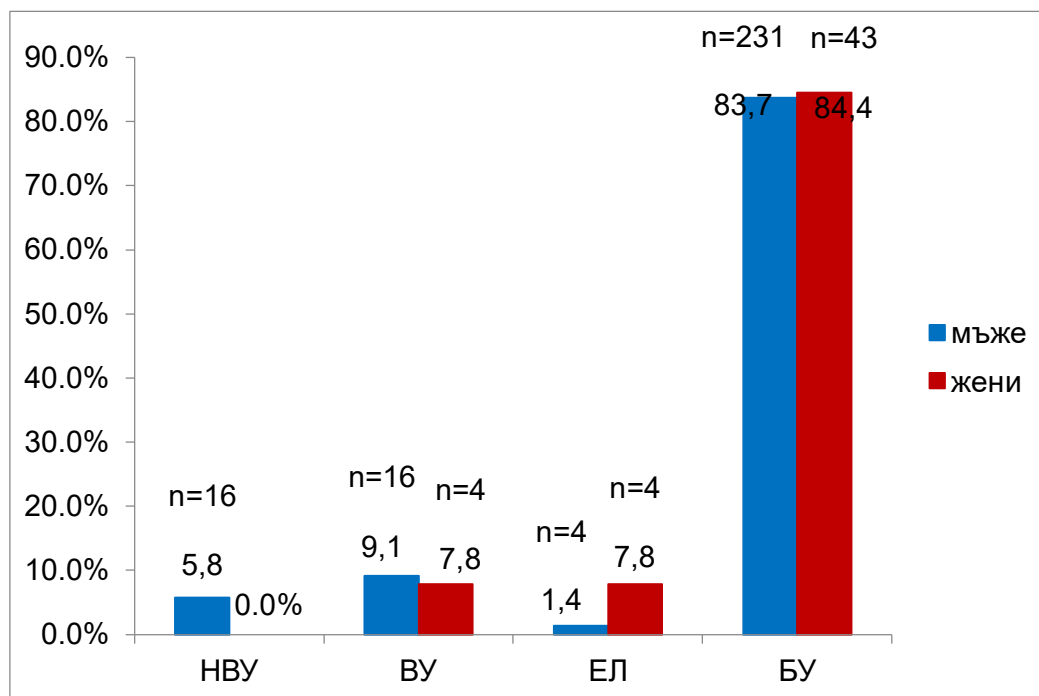
Фиг.7. Средна възраст при пациентите с белодробен карцином и пост-оперативни усложнения след торакотомия



2.3. Полът като прогностичен фактор за възникване на РПОУ при торакотомии

На фиг. 8 са посочени постоперативните усложнения при двата пола. Интересен е фактът, че невъзпалителните усложнения се наблюдават само при мъжете – 16 (5.8 %). Възпалителните усложнения се срещат при сходен процент при двата пола: при мъжете – в 25 от тях (9.1 %), при жените – 4 (7.8 %). Значително по-често се наблюдава екзитус леталис при жените – 4 (7.8 %), отколкото при мъжете – 4 (1.4 %). Наблюдаваното междугрупово различие на постоперативни усложнения е статистически значимо и при двата пола ($p=0.014$, $LR=10.680$). Установява се сходен относителен дял на пациенти без усложнения.

Фиг. 8. Постоперативни усложнения при пациентите с белодробен карцином и торакотомии при двата пола



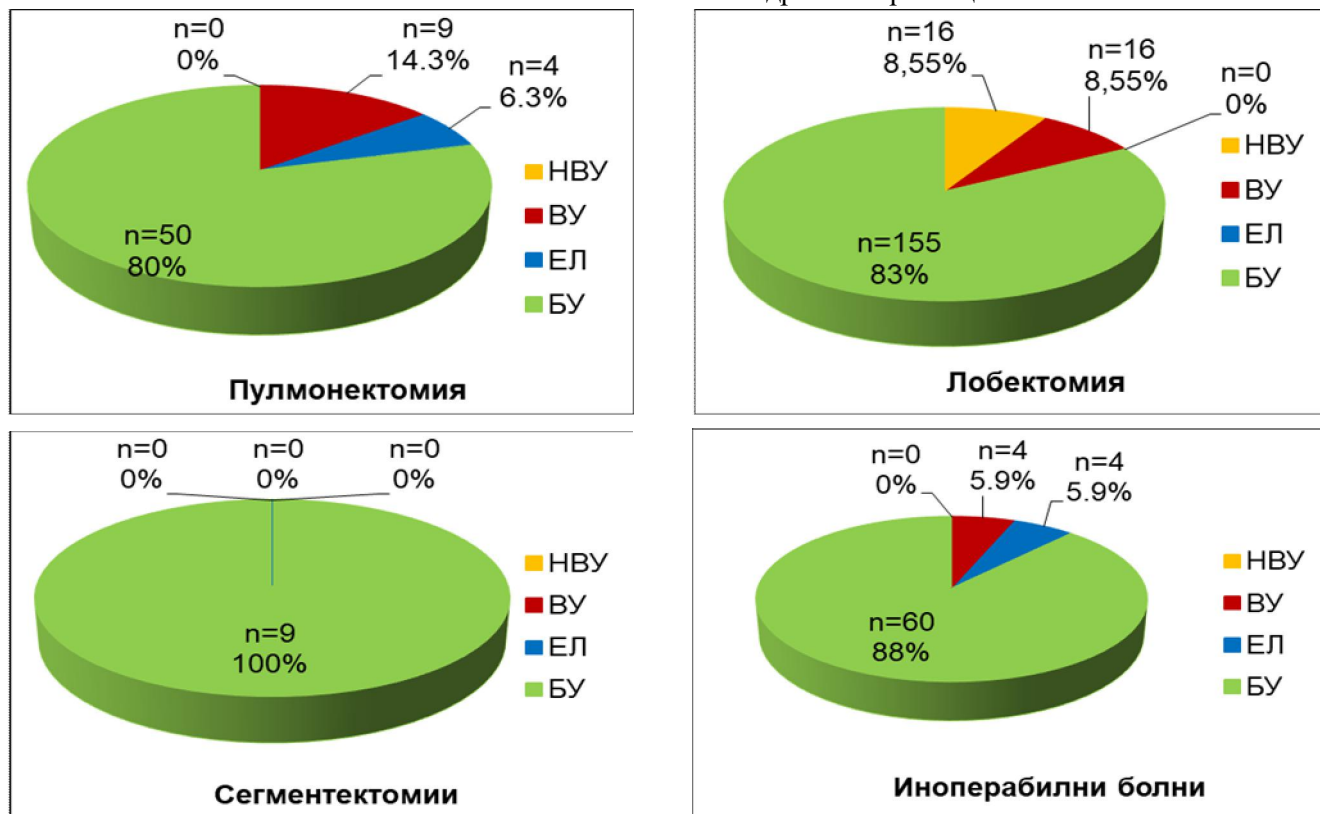
Легенда: НВУ – невъзпалителни усложнения; ВУ – възпалителни усложнения; ЕЛ – екзитус леталис; БУ – без усложнения; LR (likelihood ratio, отношение на правоподобието)

2.4. Разпределение на ранните пост-оперативни усложнения според обема на извършената оперативна интервенция

На фиг. 9 са представени постоперативните усложнения при пациентите в зависимост от обема на белодробната резекция. Всички регистрирани невъзпалителни усложнения се констатира при случаи с лобектомии - 16 (8.55 %). Толкова са и възпалителните усложнения в тази група. При сегментектомиите няма нито едно регистрирано постоперативно усложнение, но това може да се дължи на твърде ограничени брой пациенти с този вид хирургична интервенция – 9 случая.

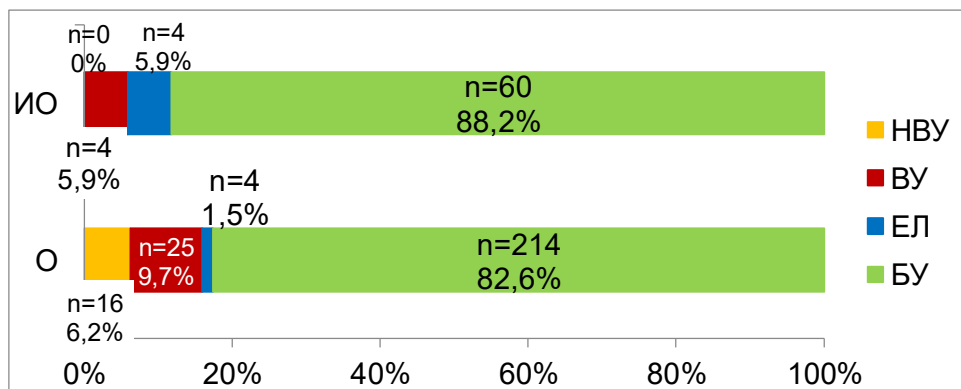
Екзиторалите пациенти се срещат при 4 (5.9 %) от иноперабилните болни и при 4 (6.3 %) от пулмонекумираните. Възпалителните усложнения са най-чести при случаите с пулмонекуми и са 9 (14,3%), а най-редки при иноперабилните - 4 (5.9 %). Намереното междугрупово различие при различните видове хирургични интервенции в зависимост от настъпилите постоперативни усложнения е статистически изразимо - $p=0.000$, $LR=37,268$. Най-много усложнения като относителен дял се регистрират при случаите с пулмонекумия – 20.6 %, следвани от случаите с лобектомии – 17.1 %.

Фиг. 9. РПОУ в зависимост от обема на белодробната резекция



Структурното разпределение на постоперативните усложнения при операбилни и иноперабилни болни е представено на фиг. 10. Невъзпалителните усложнения - 16 (6.2 %), се срещат само при операбилните болни, а възпалителните постоперативни усложнения се констатира почти два пъти по-често при операбилни болни – 25 (9,7 %) отколкото при иноперабилни болни - 4 (5.9 %). При иноперабилните пациенти екзитусите настъпват по-често като относителен дял спрямо починалите при операбилните случаи – 4 (1.5 %). При операбилните пациенти общо усложнения се наблюдават при 17,4 % от случаите, а при иноперабилните те са по-редки - при 11.8 %.

Фиг. 10. Постоперативни усложнения при операбилни и иноперабилни пациенти



3. Възпалителни маркери и корелационни зависимости с ранните пост-оперативни усложнения при пациенти с белодробни резекции

3.1. Динамика в средните нива на възпалителни маркери пред- и следоперативно при болни с белодробни резекции

Средните нива на възпалителните маркери при предоперативно и постоперативно измерване са представени на фиг.11. Албуминът показва при първото измерване средно ниво от 41.07 ± 4.92 g/l, като спрямо съпоставяната средна референтна стойност - 43.5 g/l, той е по-нисък с 2.43 g/l. При второто измерване се констатира още по-значително понижаване на средното ниво на албумина – 35.83 ± 3.90 g/l. Тук регистрираният спад спрямо сравняваната референтна стойност вече е 7.67 g/l. И двете отчетени разлики при албумина са сигнификантни ($p=0.000$).

Левкоцитите при предоперативното измерване са със средни стойности малко над горна референтна граница $10.63 \pm 4.43 \times 10^9$, като наблюдаваното различие от 0.129×10^9 не е сигнификантно ($p>0.05$). При второто измерване е налице известно повишаване на средното ниво на левкоцитите - $12.41 \pm 7.38 \times 10^9$, което е с 1.91×10^9 по-високо от горната референтна граница. Тук разликата вече е статистически изразима ($p=0.020$).

Неутрофилите пред-оперативно (65.56 ± 7.90 %) показват по-ниски средни стойности от горна референтна граница (70 %), като намереното различие от 4.44 % е сигнификантно ($p=0.077$). Следоперативно вече се отчита статистически значимо повишаване на този показател (73.30 ± 5.61 %), с 3.30 % по-високо над горната референтна граница ($p=0.004$).

CRP и при първото измерване (36.89 ± 40.67 mg/ml), както и при второто (110.57 ± 90.11 mg/ml), демонстрира значително по-високи средни нива от референтната граница - 5.9 mg/ml, като констатираните различия при първото измерване от 30.99 mg/ml и при второто от 104.67 mg/ml са статистически значими ($p=0.000$).

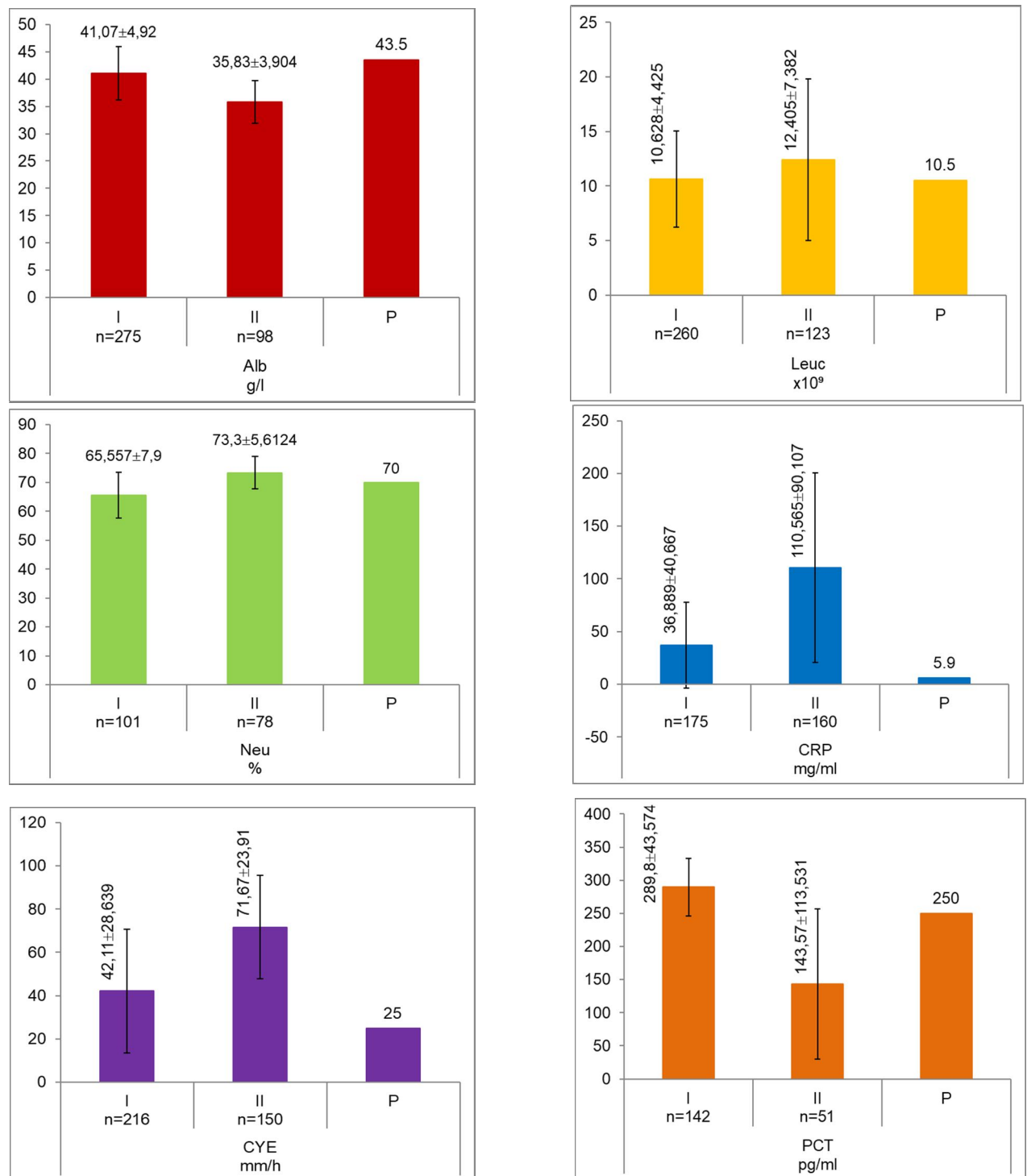
CUE и при двете измервания показва ясно изразено статистически значимо повишаване над референтната граница от 25 mm/h, като пред-оперативната разлика е 17.11 mm/h, а следоперативно тя вече е 46.67 mm/h ($p=0.000$).

Пред-оперативно регистрираното средно ниво на прокалцитонина е повишено над горна референтна граница с 39.80 pg/ml, което е статистически изразимо ($p=0.000$), но следоперативно се понижава с 106.43 pg/ml спрямо съпоставяната граница - 250 pg/ml. Този постоперативен спад също се отчита като сигнификантен ($p=0.008$).

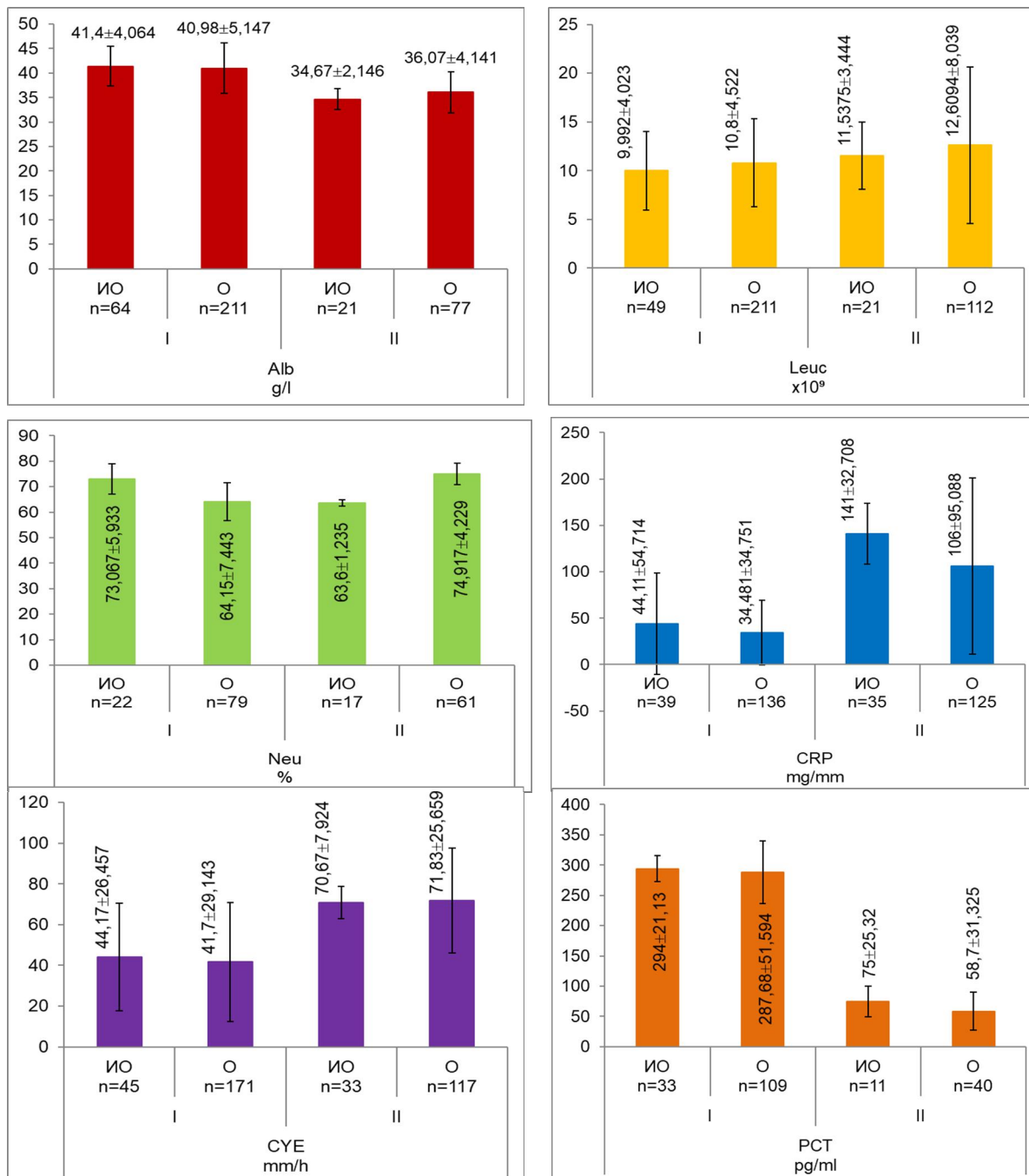
3.2. Сравнение между възпалителните маркери при иноперабилни и операбилни болни с торакотомии

Представените на фиг. 12 данни показват, че при първото измерване нивата на албумин при иноперабилни пациенти (42.40 ± 4.06 g/l) и операбилни болни (40.98 ± 5.15 g/l) са сходни, като намерената междугрупова разлика от 0.42 g/l не е статистически значима ($p>0.05$). И при двете групи следоперативно се констатира понижаване на нивото на албумина, като при иноперабилните случаи то е 34.67 ± 2.15 g/l, а при операбилните пациенти (36.07 ± 4.14 g/l) е по-високо с 1.40 g/l. При второто измерване намерената разлика между двете групи е сигнификантна при 90 % достоверност на резултатите ($p=0.097$).

Фиг. 11. Възпалителни маркери при торакотомирани пациенти с белодробен карцином
– предоперативно и постоперативно измерване



Фиг 12. Предоперативни и следоперативни нива на възпалителни маркери при операбилни и иноперабилни пациенти с торакотомии за белодробен карцином



Левкоцитите и при двете измервания показват ясно изразена тенденция на по-ниско ниво при иноперабилните болни, като при предоперативното измерване то е $9.99 \pm 4.02 \times 10^9$. На този етап при операбилните болни левкоцитите са по-високи - $10.8 \pm 4.5 \times 10^9$, като междугруповата разлика при първото измерване за този показател е 0.80×10^9 , но тя не е статистически значима ($p > 0.05$). При постоперативното измерване нивото на левкоцитите при иноперабилните болни ($11.54 \pm 3.44 \times 10^9$) също е по-ниско с 1.07×10^9 от нивото при операбилните болни ($12.61 \pm 8.04 \times 10^9$). Констатираната разлика и тук не е сигнификантна ($p > 0.05$).

Неутрофилите предоперативно са със значително по-високо ниво при иноперабилните болни ($73.07 \pm 5.93 \%$), като регистрираната разлика спрямо операбилните ($64.15 \pm 7.44 \%$) е 8.92% и е ясно статистически изразена ($p = 0.000$). Следоперативно при иноперабилните болни се регистрира значително намаление на неутрофилите – $63.60 \pm 1.24 \%$, а при операбилните болни е налице пропорционално повишаване на неутрофилите (регистрираният диапазон на спад и повишаване и при двете измервания на неутрофилите е с около 10% и при двете групи). При второто измерване при иноперабилните пациенти неутрофилите са сигнификантно по-ниски с 11.32% , отколкото при операбилните болни ($p = 0.000$).

При двукратните измервания на CRP при иноперабилните пациенти се установяват по-високи нива. При първото измерване разликата при нивата на CRP при иноперабилни и операбилни случаи е 9.63 mg/ml , а при второто измерване тази разлика вече нараства над 3 пъти – 35.00 mg/ml . При първото изследване на CRP констатираното междугрупово различие не е статистически значимо ($p > 0.05$), но при второто отчитане то вече е сигнификантно ($p = 0.018$).

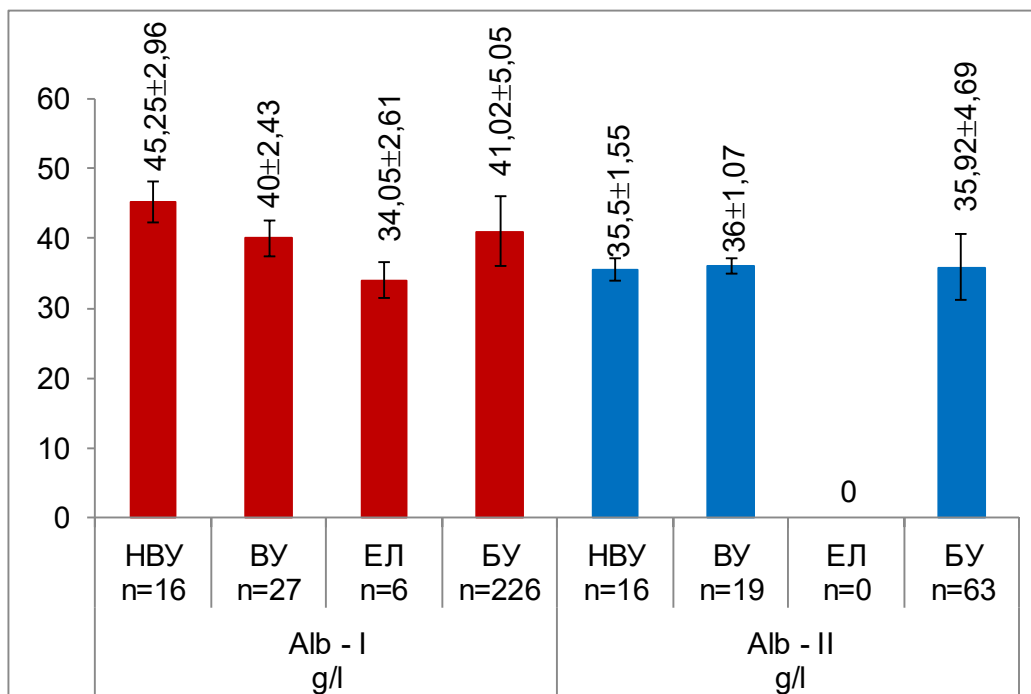
СУЕ предоперативно показва по-високи стойности при иноперабилните болни ($44.17 \pm 26.46 \text{ mm/h}$), като се установява, че показателят е по-висок с 2.47 mm/h отколкото при операбилните. При постоперативното измерване СУЕ на иноперабилните случаи ($70.67 \pm 7.92 \text{ mm/h}$) вече е малко по-ниско, отколкото при операбилните пациенти. Отчетената разлика тук е 1.17 mm/h , като тя не е сигнификантна ($p > 0.05$).

Прокалцитонинът и в двете измервания при иноперабилните болни е с по-високи нива, отколкото при операбилните случаи, като при предоперативното измерване е регистрирана междугрупова несигнификантна разлика от 6.32 pg/ml , а при постоперативното измерване тя вече е 16.30 pg/ml и е ясно статистически изразена ($p = 0.000$).

3.3. Междугрупови сравнения на възпалителните маркери при пациенти с ранни пост-оперативни усложнения след торакотомии за белодробен карцином

Най-ниски серумни нива на албумина при предоперативното измерване се регистрират при екзитираните пациенти – 34.05 ± 2.61 g/l (фиг.13).

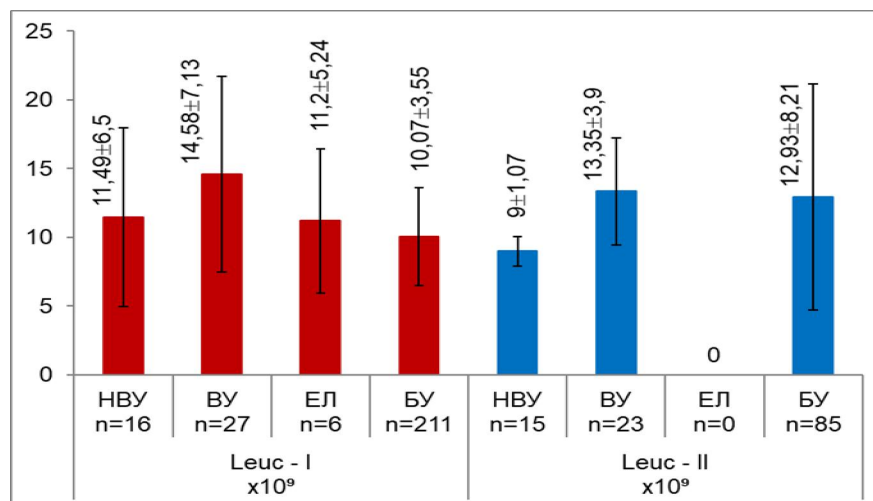
Фиг.13. Серумен албумин (Alb) при пациенти с торакотомии за първичен белодробен карцином, с или без постоперативни усложнения



При пациентите с възпалителни усложнения средното нива на албумина е 40.00 ± 2.43 g/l, като то е с 5.25 g/l по-ниско от случаите с настъпили невъзпалителни усложнения. Намерените междугрупови различия при нивата на албумин са сигнификантни ($X^2 = 7.496$, $p=0.000$). При постоперативното измерване регистрираните нива на албумина показват понижаване при всички групи пациенти (на екзитираните съответно не са измерени на този етап на проучването), като тук регистрираните междугрупови различия не се отчитат като сигнификантни ($X^2 = 0.075$, $p=0.928$).

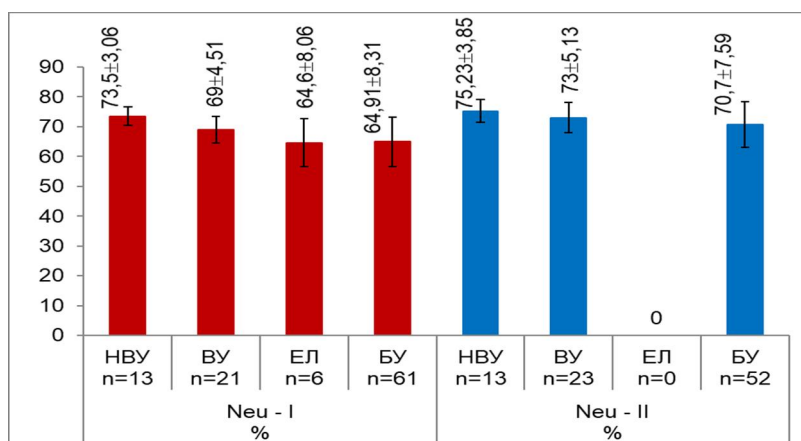
И при двете измервания левкоцитите при случаите с възпалителни постоперативни усложнения са по-високи, отколкото при останалите съпоставени групи, напр. в сравнение с невъзпалителните усложнения разликата е 3.10×10^9 , а спрямо болните без усложнения разликата е 4.51×10^9 . Междугруповото различие при предоперативното измерване се регистрира като сигнификантно ($X^2 = 8.354$, $p=0.000$), но при следоперативното измерване вече не е статистически значимо ($X^2 = 1.520$, $p=0.225$).

Фиг.14. Общ брой левкоцити (Leuc) при пациенти с торакотомии за първичен белодробен карцином, с или без постоперативни усложнения



Неутрофилите като относителен дял и при двете измервания са най-високи при случаите с невъзпалителни усложнения (първо измерване – 73.50 ± 3.06 %, при второ измерване – 75.23 ± 3.85 %) – фиг. 15. Относителният дял на неутрофилите при възпалителните усложнения е по-висок, отколкото при случаите, в които няма усложнения, като предоперативно той е 69.00 ± 4.51 %, а следоперативно е 73.00 ± 5.13 %. Междугруповите разлики обаче не са сигнификантни ($p > 0.05$).

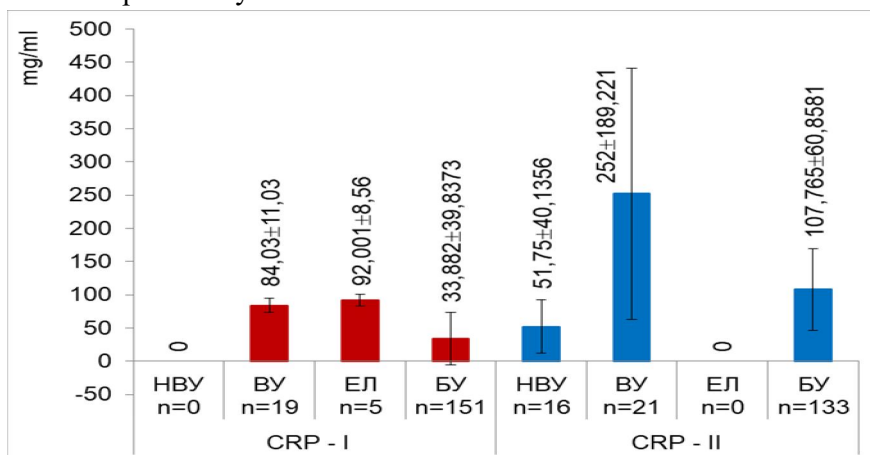
Фиг.15. Неутрофилни левкоцити (относителен дял) при пациенти с торакотомии за първичен белодробен карцином, с или без постоперативни усложнения



Предоперативното CRP (I-во измерване) при случаите с възпалителни усложнения е 84.00 ± 11.03 mg/ml, а при случаите без усложнения е 33.88 ± 39.84 mg/m (фиг. 16). Най-високо е CRP при екзитираните – 92.00 ± 8.56 mg/ml, като регистрираното междугрупово различие при средните нива на CRP и при двете измервания е статистическо изразимо ($\chi^2 = 7.324$, $p = 0.001$). CRP при постоперативното

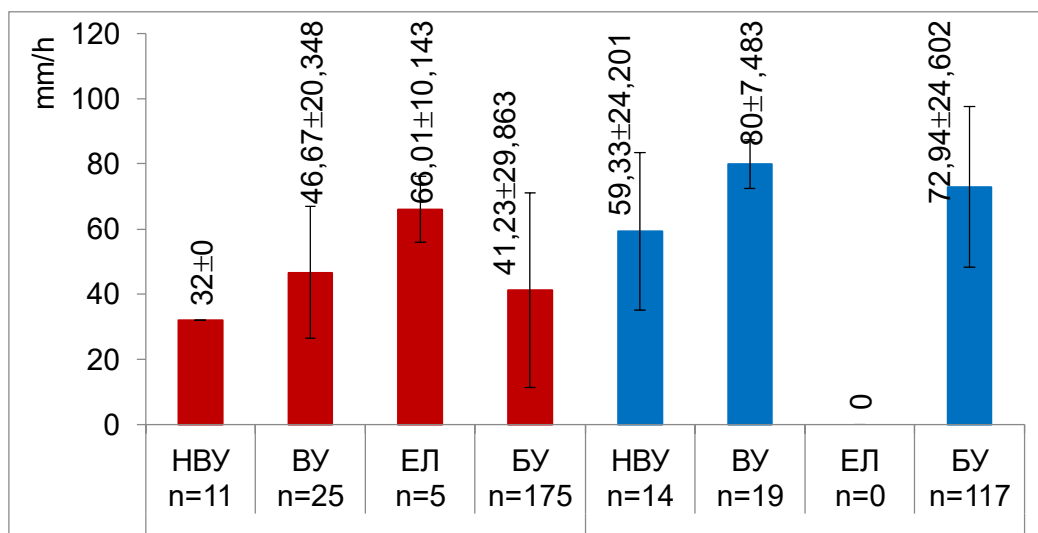
(II-ро) измерване показва още по-високи стойности за този показател при случаите с постоперативни възпалителни усложнения – 252.00 ± 189.22 mg/ml, като при случаите без усложнения е 107.77 ± 60.86 mg/ml, а при невъзпалителните усложнения - 51.75 ± 40.14 mg/ml ($\chi^2=18.373$, $p=0.000$).

Фиг.16. CRP при пациенти с торакотомии за първичен белодробен карцином, с или без постоперативни усложнения



При първото измерване на СУЕ най-високи средни стойности за този показател са измерени при екзитираните пациенти – 66.02 ± 10.14 mm/h (фиг. 17). При пациентите с възпалителни усложнения е 46.67 ± 20.35 mm/h, като е по-високо от случаите с невъзпалителни усложнения и тези без постоперативни усложнения. Постоперативно отново СУЕ при случаите с възпалителни усложнения е по-високо, отколкото при пациентите с невъзпалителни усложнения или без такива.

Фиг.17. СУЕ при пациенти с торакотомии за първичен белодробен карцином, с или без постоперативни усложнения



Намерените междугрупови различия за този показател не са статистически изразими ($p>0.05$) въпреки че се очертава ясна тенденция за по-високо СУЕ при случаите с възпалителни усложнения. За СУЕ обаче има констатирани две статистически значими междугрупови различия при 90 % достоверност на резултатите - първото значимо различие е между средното предоперативно ниво на СУЕ при пациентите с невъзпалителни усложнения и екзитиралите – разликата е 34.00 mm/h ($p=0.095$), а второто различие е между починалите пациенти и тези без усложнения – разликата е 24.77 mm/h ($p=0.090$).

Прокалцитонинът при предоперативното измерване показва най-високо ниво при случаите с възпалителни усложнения – 297.00 ± 3.21 pg/ml, като то е с близо с 10 pg/ml по-високо, отколкото при пациентите без усложнения. Намерената междугрупова разлика в този случай не е сигнификантна ($p>0.05$).

Трите възпалителни показателя, които се откриват под референтна граница при някои болни от изследвания контингент са: албумин, прокалцитонин и CRP (таблица 4).

Таблица 4. Обобщено структурно разпределение на торакотомираните пациенти с отклонения от референтните граници на възпалителни маркери

Възпалителен маркер	Болни под долна референтна граница		Болни в референтни граници		Болни над горна референтна граница	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%
Alb						
	под 35g/l		от 35 g/l до 52g/l		над 52 g/l	
Alb I проба	32	11,6	238	86,6	5	1,8
Alb II проба	65	66,3	33	34,7	...	...
Leuc						
	под $3,5 \times 10^9$		от $3,5 \times 10^9$ до $10,5 \times 10^9$		над $10,5 \times 10^9$	
Leuc I проба			144	55,4	116	44,6
Leuc II проба			73	59,3	50	42,7
Neu						
			от 42% до 70%		над 70%	
Neu I проба			71	70,3	30	29,7
Neu II проба			32	41	46	59
PCT						
	под 250 pg/ml				над 250 pg/ml	
PCT I проба	13	9,2			129	90,8
PCT II проба	19	100				
CRP						
	под 6 mg/ml				над 6mg/ml	
CRP I проба	51	29,1			124	70,9
CRP II проба	19	11,9			141	88,1
СУЕ						
	под 2 mm/h		от 2 mm/h до 25 mm/h		над 25 mm/h	
СУЕ I проба			57	26,4	159	73,6
СУЕ II проба			15	10	135	90

За останалите показатели – брой левкоцити, процент неутрофили и СУЕ, не се установяват понижени стойности. За албумина и прокалцитонина е характерно, че при второто измерване (постоперативно) процентът на случаите със стойности под долна референтна граница, се е увеличил неколkokратно спрямо първото им изследване. Например при предоперативното измерване албуминът под 35 g/l се среща при 35 (11.9 %) от случаите, а при постоперативното измерване, процентът на пациентите с ниски нива на албумина вече е 66.3 %. Подобна е констатацията за прокалцитонина, като при първото измерване случаите с ниво под 250 pg/ml са 13 (9.2 %), а следоперативно всички изследвани (100%) са с по-нисък прокалцитонин. При предоперативното измерване на CRP при 51 (33.8 %) от случаите без усложнения също се констатира, че няма високи нива на този маркер, но след хирургичната интервенция процентът на изследваните с CRP в референтната граница намалява до 19 (11.9 %) пациента.

Увеличени нива на възпалителните маркери пред- и постоперативно се наблюдават най-често при СУЕ и CRP. Следоперативно CRP е увеличен при 141 (88.31 %), а СУЕ - при 135 (90 %) от пациентите. Трябва да се подчертае, че при следоперативното измерване няма нито един случай, който да е с албумин над горна референтна граница (над 52 g/l). Предоперативно процентът на случаи с прокалцитонин над горна референтна граница, е висок - 90.8 %, докато следоперативно не се установява повишен в нито един от изследваните. Процентът на пациентите с неутрофили над горна референтна граница също се увеличава след хирургичната интервенция, като предоперативно те са били 29.7 %, а следоперативно вече са станали 71.4 % от изследваните.

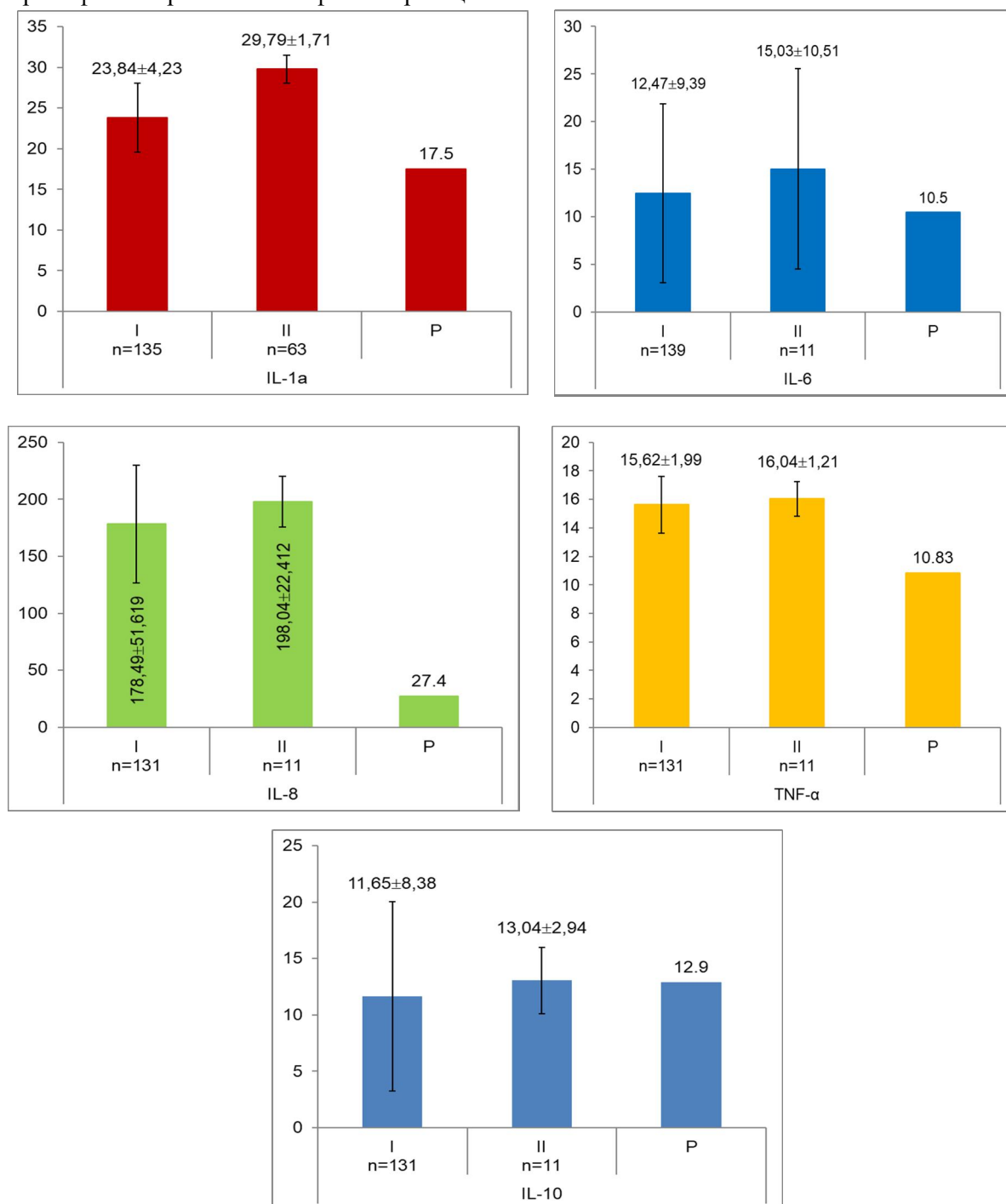
4. Цитокинов профил при торакотомирани пациенти с карцином на белия дроб

4.1. Пред- и следоперативни цитокинови нива при болни с торакотомии

На фиг. 18 са съпоставени предоперативно и постоперативно средните серумни концентрации на проинфламаторни и антиинфламаторни цитокини със средните референтни стойности. По-високи нива от съпоставените средни референтни стойности се отчитат при всички изследвани цитокини – IL-1a, IL-6, IL-8, TNF-a и IL-10. При предоперативното измерване на IL-1a разликата спрямо средната референтна стойност (17,5pg/ml) е 6,34 pg/ml. При второто отчитане на средното ниво на тази променлива намерената разлика е 12,29 pg/ml, като тя се увеличава близо два пъти, т.е. като цяло средното ниво на показателя показва повишение в динамика. И двете различия тук са ясно статистически изразени ($p=0,000$).

Намерената разлика на средното ниво на IL-6 спрямо референтната ѝ стойност при предоперативното измерване е 1,97 pg/ml ($p>0,005$). При постоперативното измерване това различие вече е нараснало близо два пъти и половина и е 4,53 pg/ml. И в двата случая намерените разлики не са сигнификантни, което вероятно (особено при второто измерване) се дължи на допусната грешка от втори род в резултат на ограничения брой изследвани.

Фиг. 18. Пред- и постоперативни средни серумни концентрации на измерените проинфламаторни и антиинфламаторни цитокини



И при двете измервания нивото на IL-8 е значително повишено над референтната стойност. При отчитането на IL-8 предоперативно се констатира сигнификантна разлика от 151,09 pg/ml ($p=0,001$) спрямо референтната стойност, а постоперативно намереното различие за тази променлива вече е 170,64 pg/ml, като тя също е сигнификантна ($p=0,000$).

При отчитането на TNF-а са регистрирани по-високи нива спрямо сравняваната средна референтна стойност, които са статистически изразими ($p < 0.05$). При първото измерване за този показател намерената разлика е 4,78 pg/ml ($p = 0,000$), а при второто - 5,21 pg/ml ($p = 0,058$), като последната е статистически изразима при 90 % достоверност на резултатите.

Антиинфламаторният цитокин IL – 10 предоперативно е леко повишен спрямо съпоставената средна референтна стойност (10,05 pg/ml), като намерената разлика от 1,60 pg/ml е статистически изразима ($p = 0,034$). При постоперативното измерване се констатира значително повишение на IL – 10 и вече отчетената разлика е 2,99 pg/ml ($p = 0,007$).

4.2.Корелация между серумните предоперативни цитокинови нива и наличието на ранни усложнения при торакотомирани пациенти

На фиг. 19 са сравнени средните предоперативни нива на про-инфламаторни и антиинфламаторни цитокини при пациенти с възпалителни усложнения, екзитирали случаи и при такива без усложнения.

При предоперативното изследване на IL-1a най-високо е нивото при екзитираните случаи – 28.03 ± 4.10 pg/ml, а най-ниско при болните без усложнения (22.95 ± 4.17 pg/ml), като намереното междугрупово различие за този показател е статистически значимо ($\chi^2 = 3,786$, $p = 0,026$).

При първото измерване на IL-6 се установява, че най-ниското ниво е отчетено при случаите без усложнения – 2.70 ± 0.39 pg/ml, а най-високо при тези с възпалителни усложнения – 10.60 ± 9.18 pg/ml. Няма статистически значимо междугрупово различие в този случай ($\chi^2 = 0,795$, $p = 0.454$). Различни данни са получени предоперативно за IL-8 – най-ниски серумни концентрации са при болните без усложнения, а най-високи – при екзитираните, но без статистически достоверна разлика между случаите с възпалителни усложнения и тези без усложнения.

При предоперативното измерване на TNF-а средните регистрирани концентрации при съпоставените групи са близки до долна референтна граница и не се различават статистически значимо помежду си ($\chi^2 = 0,635$, $p = 0.532$).

При първото измерване на IL-10 се установява най-високо ниво при торакотомираните без усложнения – 25.04 ± 4.05 pg/ml, а най-ниско е при пациентите с възпалителни усложнения и летален изход. Намереното междугрупово различие за този показател е сигнификантно ($\chi^2 = 5.003$, $p = 0.009$).

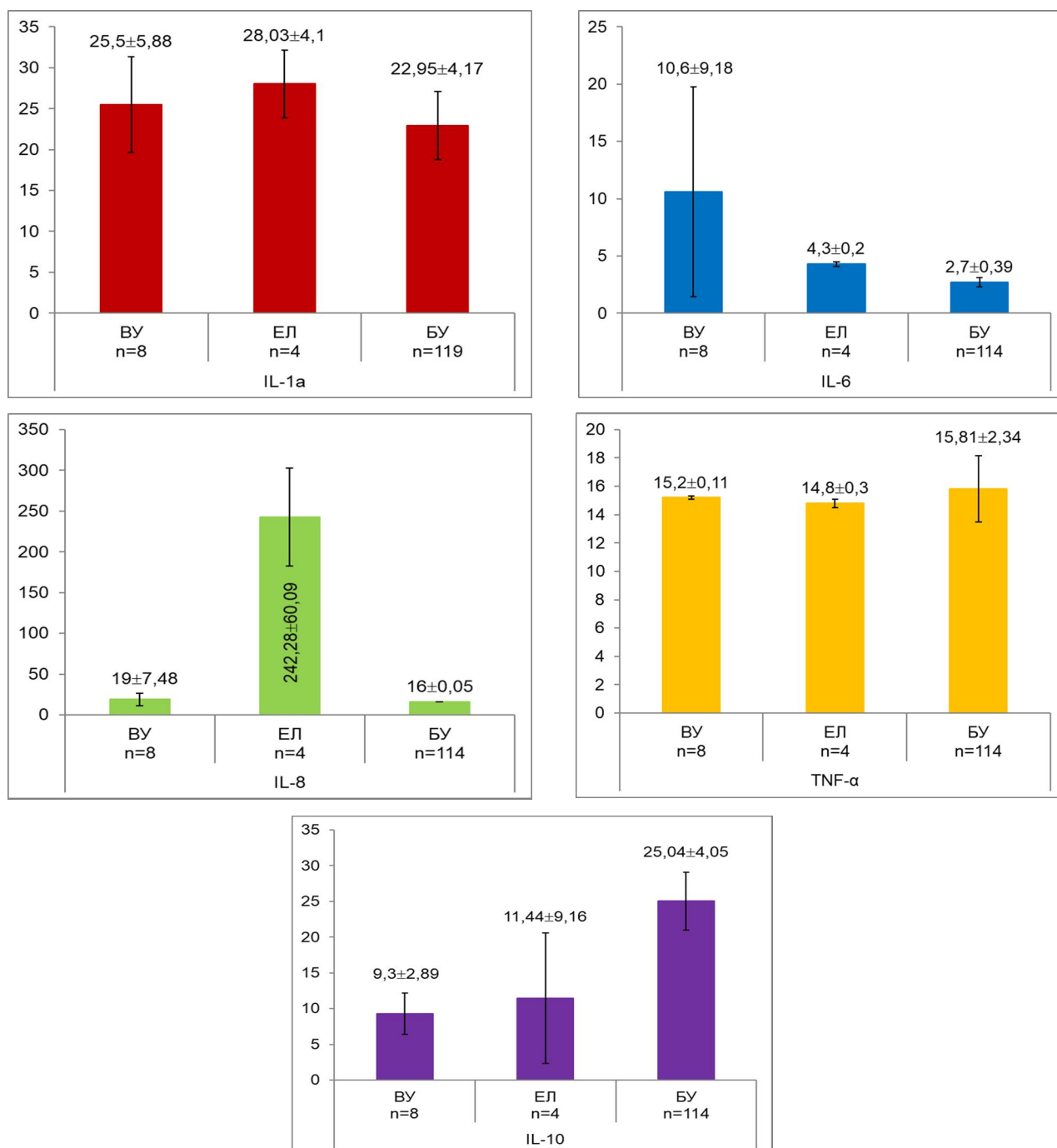
5. Серумни VEGF-A и ICAM-1 при болни с белодробни резекции за първичен белодробен карцином

5.1. Пред- и пост-оперативна динамика на VEGF-A в зависимост от РПОУ след торакотомия

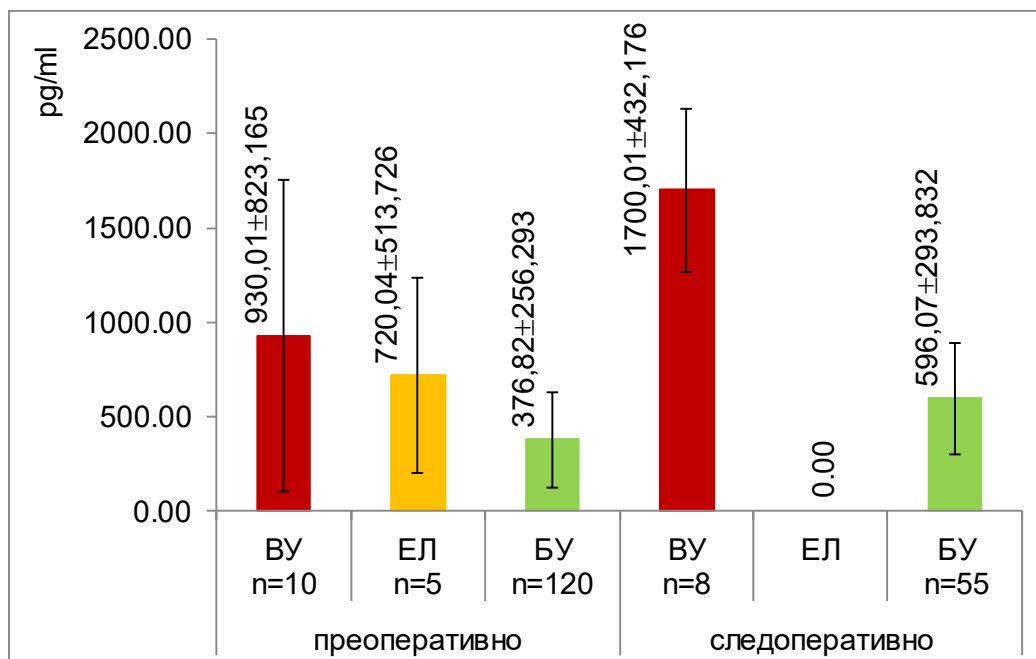
И при двете детекции VEGF-A показва най-високи средни нива при пациентите с инфламаторни усложнения (фиг. 20). С най-ниски VEGF-A концентрации са болните без усложнения (376.83 ± 256.293 pg/ml) при пред-оперативното измерване в сравнение с

двете подгрупи с възпалителни усложнения или с exitus letalis. Вътрегруповите различия са сигнификантни ($p=0,000$).

Фиг.19. Сравнение на проинфламаторни и антиинфламаторни цитокини при случаите с възпалителни усложнения, екзитирали и без усложнения – предоперативно измерване



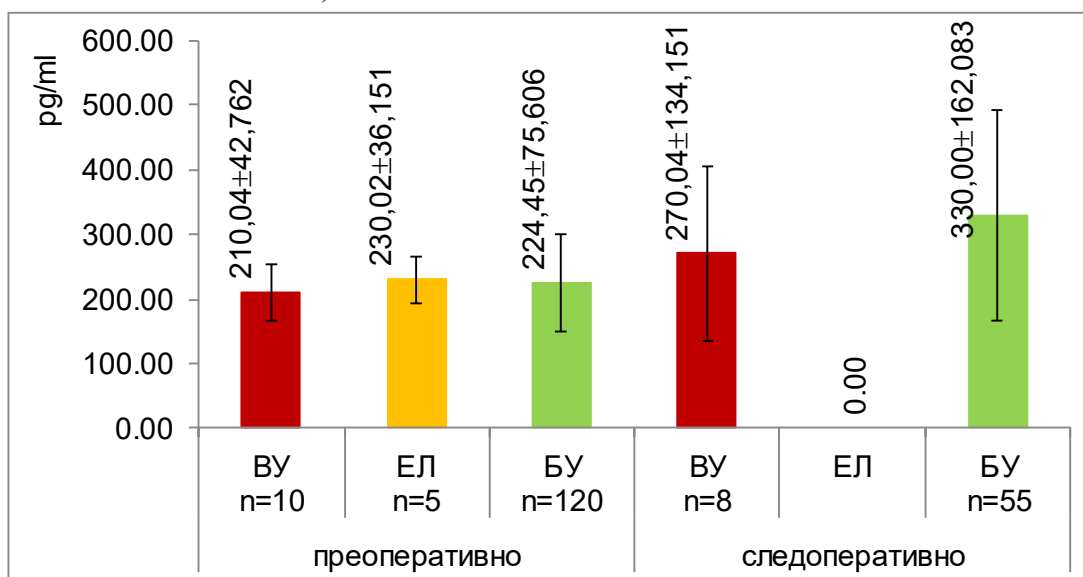
Фиг. 20. Пред- и следоперативно изследване на серумни концентрации на VEGF-A при различни групи пациенти с белодробен рак - без и с пост-оперативни усложнения (възпалителни и exitus letalis)



5.2. Пред- и пост-оперативна динамика на ICAM-1 в зависимост от РПОУ след торакотомия

Следоперативните нива на ICAM-1 демонстрират увеличение в две от групите - с възпалителни усложнения и без усложнения (фиг.21).

Фиг. 21. Пред- и следоперативно изследване на серумни концентрации на ICAM-1 при различни групи пациенти с белодробен рак - без и с пост-оперативни усложнения (възпалителни и exitus letalis)



Преди и след оперативната интервенция ICAM-1 е с най-ниски нива в случаите с възпалителни усложнения (1^{во} измерване – 210.01±42.76 pg/ml; 2^{по} измерване – 270.04±114.351 pg/ml) в сравнение с болните без усложнения (224,45±75,606 pg/ml предоперативно и 330.04±162.083 pg/ml следоперативно), както и при тези с exitus letalis (предоперативно 230.02±36,151 pg/ml). Но и при двете измервания (пред- и следоперативно) вътре-груповите различия не са сигнификантни (p>0.05).

5.3. Множествен вътре-групов анализ на VEGF-A и ICAM-1 при пациенти с и без усложнения

Множественият вътре-групов анализ на VEGF-A и ICAM-1 при предоперативното им измерване е представен на таблица 5. Стойностите на VEGF-A се различават значително между пациентите с ранни възпалителни пост-оперативни усложнения и тези без усложнения (разликата в концентрациите е 553.182±121.251 pg/ml, p=0,000). Различия има и между пациентите с exitus letalis и тези без усложнения (343.182±167.865 pg/ml, p=0,044). Не се установяват сигнификантни междугрупови разлики в серумните нива на ICAM-1.

Следоперативното измерване на VEGF-A корелира положително със след-оперативните усложнения, като връзката е значителна по сила ($r_s = 0,548$, p=0,001).

Таблица 5. Множествен вътре-групов анализ на предоперативното изследване на VEGF-A и ICAM-1 при пациенти с ранни пост-оперативни възпалителни усложнения, без усложнения и с exitus letalis

Показател	Сравнение на VEGF-A и ICAM-1 между пациентите с различни усложнения		Средна разлика	SEM	p	95% CI	
						Долна граница	Горна граница
VEGF-A pg/ml предоперативно	Възпалителни и Exitus letalis		210,000	201,072	0,299	-189,07	609,07
	Възпалителни и без усложнения		553,182*	121,251	0,000	312,53	793,83
	Exitus letalis и възпалителни		-210,000	201,072	0,299	-609,07	189,07
	Exitus letalis и без усложнения		343,182*	167,865	0,044	10,02	676,35
	Без усложнения и възпалителни		-553,182*	121,251	0,000	-793,83	-312,53
ICAM-1 pg/ml предоперативно	Без усложнения и Exitus letalis		-343,182*	167,865	0,044	-676,35	-10,02
	Възпалителни и Exitus letalis		-20,000	44,408	0,653	-108,14	68,14
	Възпалителни и без усложнения		-14,455	26,779	0,591	-67,60	38,69
	Exitus letalis и възпалителни		20,000	44,408	0,653	-68,14	108,14
	Exitus letalis и без усложнения		5,545	37,074	0,881	-68,04	79,13
	Без усложнения и възпалителни		14,455	26,779	0,591	-38,69	67,60
	Без усложнения и Exitus letalis		-5,545	37,074	0,881	-79,13	68,04

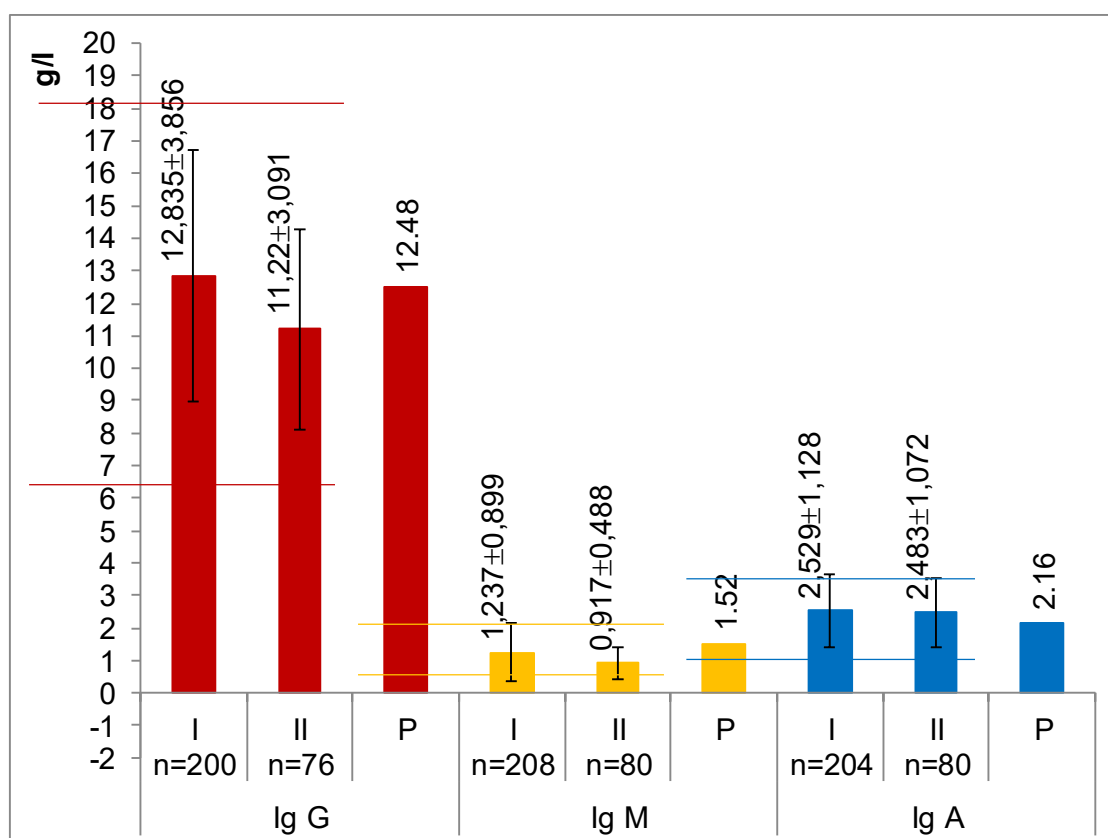
*Сигнификантна разлика при p <0.05.

6. Общи серумни имуноглобулини G, M и A при пациенти с торакотомии за белодробен карцином

6.1. Тенденции в средните нива на общите серумни имуноглобулини A, G и M при пред- и следоперативно измерване

На фиг. 22 са съпоставени средните нива на общите серумни имуноглобулини - Ig G, Ig M и Ig A като компоненти на хуморалния имунитет при торакотомияните болни със средните референтни стойности. Макар и в референтни граници, те показват някои интересни тенденции.

Фиг 22. Общи серумни имуноглобулини – съпоставка със средни референтни стойности (P) - предоперативно (I-во) и постоперативно (II-ро) измерване



Средното серумно ниво на Ig G при предоперативното измерване демонстрира леко повишаване над съпоставената средна референтна стойност, като намерената разлика от 0,355 g/L е статистически незначима ($p > 0.05$). При следоперативното измерване средното ниво на този показател се понижава и отчетената разлика спрямо референцията е 1,26 g/L, която е статистически изразима ($p = 0.001$).

И при двете измервания данните за Ig M показват сигнификантно по-ниски нива от съпоставената средна референтна стойност - 1.52 g/L ($p < 0.05$). При предоперативното отчитане средното ниво на Ig M е с 0,283 g/L по-ниско от

съпоставената стойност. След торакотомията понижаването се задълбочава и вече установената разлика е 0,603 g/L, като и двете разлики са статистически изразими ($p < 0.05$).

При измерването на Ig A се констатира трайно по-високо ниво от съпоставената средна референтна стойност - 2,16 g/L. Намерената разлика спрямо изчислената референтна стойност при първото измерване е достоверна 0,368 g/L ($p = 0.000$), както и при второто - 0,323 g/L ($p = 0.009$).

6.2. Общи серумни имуноглобулини при пациенти с торакотомии - без или с ранни постоперативни усложнения

На таблица 6 са сравнени средните нива на общите серумни имуноглобулини при екзитирани случаи, при такива без усложнения, с възпалителни и невъзпалителни усложнения. При сравнението на предоперативните концентрации на IgG се установява, че най-високи са средните нива в групата с невъзпалителни усложнения – 14.95 ± 1.90 g/L, а най-ниски са нивата при пациентите с възпалителни усложнения – 11.44 ± 2.67 g/L. Множествените групови сравнения на изследваните общи имуноглобулини установяват, че намереното различие между цитираните по-горе две групи пациенти от 3.52 g/L е статистически значимо ($p = 0.022$). При следоперативното измерване на Ig G отново най-високите измерени стойности са регистрирани при случаите с невъзпалителни усложнения – 12.78 ± 3.04 g/L, като отново най-ниско е нивото при случаите с възпалителни усложнения – 10.90 ± 2.47 g/L. Междугруповото различие в този случай обаче не е сигнификантно изразено ($p > 0.05$).

При двете измервания на Ig M, както и при данните за Ig G, едни от най-високите нива на Ig M се регистрират при случаите с невъзпалителни усложнения, а едни от най-ниските нива са при пациентите с възпалителни усложнения. При първото измерване междугруповото различие за нивото на Ig M не е сигнификантно ($p > 0.05$), но при второто то вече е статистически значимо при 90 % достоверност на резултатите ($p = 0.075$).

Установява се, че при първото измерване най-високо е нивото на Ig A при починалите пациенти (3.86 ± 1.24 g/L), следвано от случаите с невъзпалителни усложнения – 2.83 ± 0.29 g/L. Междугруповото различие в този случай също е статистически значимо при 90 % достоверност на резултатите ($p = 0.084$). При следоперативното отчитане на Ig A е регистрирано най-ниско средно серумно ниво при пациентите с невъзпалителни усложнения – 1.72 ± 0.57 g/L, а най-високо е при тези с възпалителни усложнения – 3.13 ± 1.90 g/L. При това измерване на Ig A междугруповата разлика е статистически изразима ($p = 0.012$).

При предоперативното измерване от установените корелации между възпалителните усложнения и общите серумни имуноглобулини се доказва значима отрицателна и слаба по сила корелация между Ig M и постоперативните усложнения ($r_s = -0.259$, $p = 0.001$). Друга отрицателна корелация на този етап на изследването е между възпалителните усложнения и предоперативните Ig G. Тя е статистически значима при 90 % достоверност на резултатите, като отново е слаба по сила ($r_s = -0.141$, $p = 0.084$). Това означава, че по-ниските серумни концентрации на IgM и IgG

предоперативно могат да насочат към развитие на ранни възпалителни постоперативни усложнения.

Таблица 6. Сравнение на общите серумни имуноглобулини при случаите с усложнения (възпалителни, невъзпалителни, екзистирани) и без усложнения – предоперативно и постоперативно измерване

Серумни Иг при различни пост-оперативни усложнения		Брой	X g/L	SD g/L	X ²	p
Ig G I-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	14,953	1,902	1,817	0,146
	възпалителни усложнения	16	11,435	2,665		
	екзистус	4	12,470	0,000		
	няма усложнения	136	13,007	4,254		
	общо	168	12,984	4,002		
Ig G II-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	12,776	3,039	1,718	0,187
	възпалителни усложнения	8	10,900	2,469		
	екзистус	0	.	.		
	няма усложнения	52	10,939	3,247		
	общо	72	11,241	3,176		
Ig M I-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	1,236	0,402	1,346	0,261
	възпалителни усложнения	16	0,467	0,301		
	екзистус	4	0,120	0,000		
	няма усложнения	140	1,361	1,226		
	общо	172	1,240	1,035		
Ig M II-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	1,126	0,349	2,688	0,075
	възпалителни усложнения	8	0,630	0,331		
	екзистус	0	.	.		
	няма усложнения	56	0,877	0,513		
	общо	76	0,890	0,487		
Ig A I-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	2,830	0,285	2,251	0,084
	възпалителни усложнения	16	2,47	1,504		
	екзистус	4	3,860	0,000		
	няма усложнения	136	2,525	1,076		
	общо	168	2,574	1,091		
Ig A II-ва проба	невъзпалителни усложнения	12	1,720	0,570	4,749	0,012
	възпалителни усложнения	8	3,125	1,897		
	екзистус	0	.	.		
	няма усложнения	56	2,502	0,949		
	общо	76	2,444	1,086		

7. Клетъчен имунитет при пациенти с торакотомии за белодробен карцином

Изследваните компоненти на клетъчния имунитет са анализирани в две групи:

В първата група са представени основни лимфоцитни популации по брой и процент, включващи:

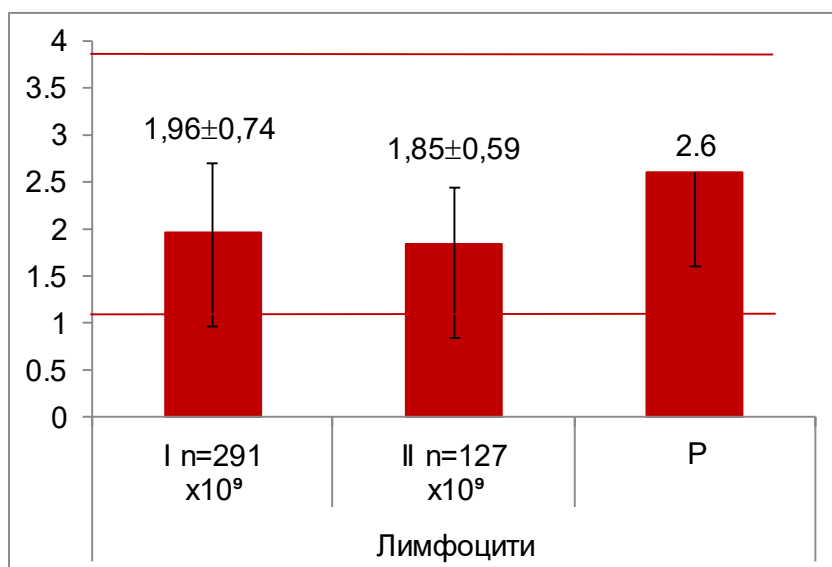
- общ брой лимфоцити,
- CD3+ Т имунокомпетентни клетки,
- CD19+ В клетки
- и CD56+ NK клетки по брой и процент.

Във втората група се интерпретират субпопулациите на Т лимфоцитите:
 -CD4+CD8- Т хелперни клетки,
 -CD4-CD8+ Т супресорно-цитотоксични клетки
 -и CD4+/CD8+ индекс.

7.1. Промени в основните лимфоцитни популации при торакотомирани болни с карцином на белия дроб

За отбелязване е, че всички изследвани показатели на лимфоцитите като средни стойности са в референтните граници, но не се наблюдават ясни тенденции за понижаването им след торакотомия. При анализа на първата група имунни клетки се установява, че предоперативно измереният общ брой лимфоцити на изследвания контингент е $1.96 \pm 0.74 \times 10^9$ лимфоцити/L (фиг. 23), като спрямо съпоставената средна референтна стойност - 2.6×10^9 лимфоцити/L понижението от 0.62×10^9 е статистически изразимо ($p=0.00$). При постоперативното измерване на лимфоцитите се констатира също спад в общия им брой с намерена разлика спрямо сравняваната средна референтна стойност от 0.75×10^9 лимфоцити/L.

Фиг. 23 Общ брой лимфоцити - съпоставка със средни референтни стойности (предоперативно и постоперативно измерване)

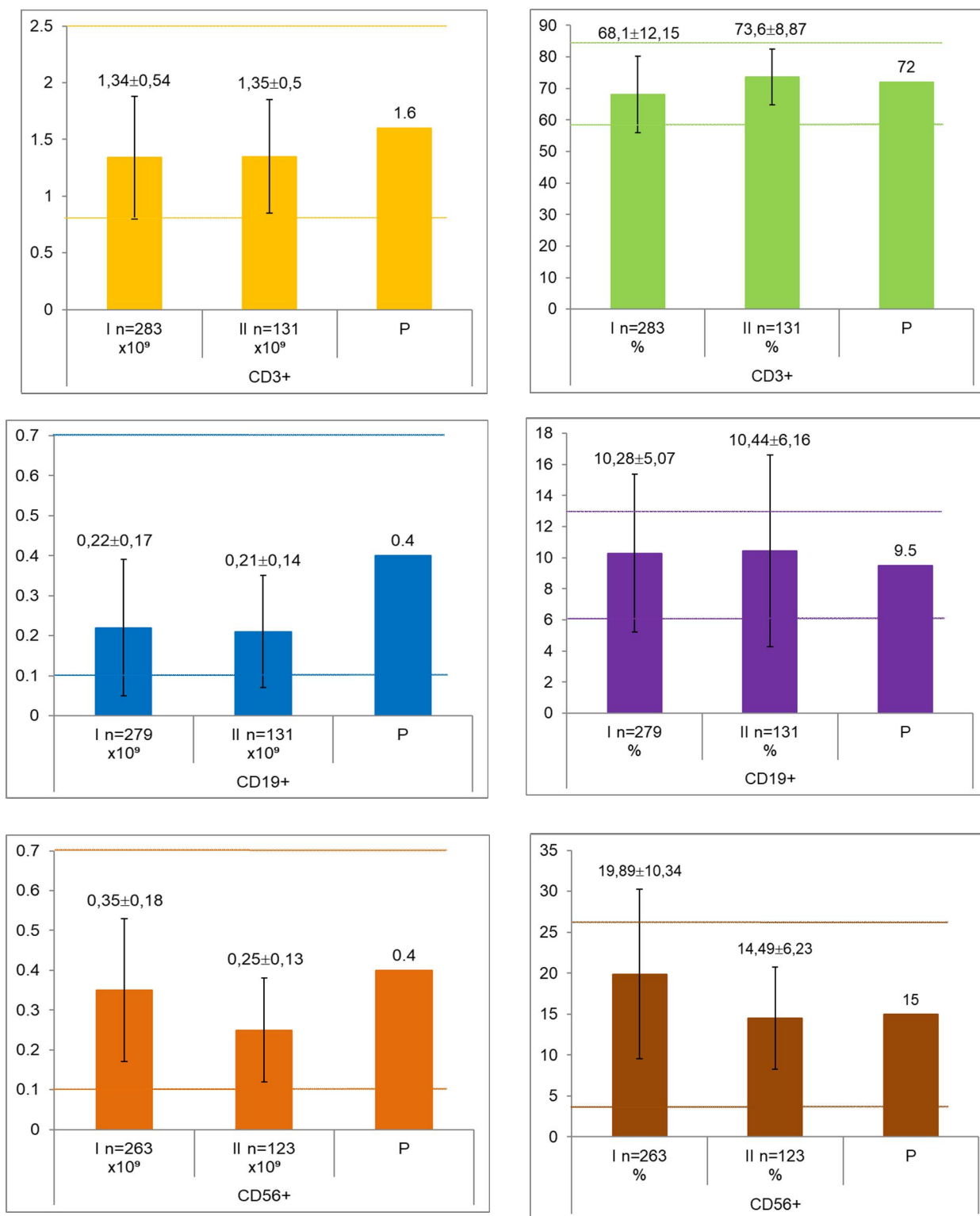


При предоперативното измерване на CD3+ Т-имунокомпетентните клетки, както абсолютният им брой, така и процентът, са под средната съпоставяна референтна стойност (фиг. 24). Същото се отнася и при отчитането на абсолютния им среден брой при следоперативното измерване, като за този показател намерените разлики спрямо съпоставената средна референтна стойност на CD3+ (1.6×10^9 /L) са статистически значими ($p<0.05$).

При отчитането на общия брой CD19+ В клетки отново се констатира, че средните нива на изследваната група са двукратно и статистически значимо по-ниски (съответно 0.22 и 0.21×10^9 /L) спрямо съпоставената средна референтна стойност, която е 0.4×10^9 В клетки/L ($p=0.000$). Това се отнася както за предоперативното, така и за

следоперативното измерване на общия брой CD19+. При постоперативното измерване на процента на CD19+ клетки обаче се констатира леко, но не и сигнификантно повишение (10.44%) спрямо измерваната средна референтна стойност, която е 9.5 % ($p>0.05$).

Фиг. 24. Основни лимфоцитни популации - съпоставка със средни референтни стойности (P) – предоперативно (I-во) и постоперативно (II-ро) измерване

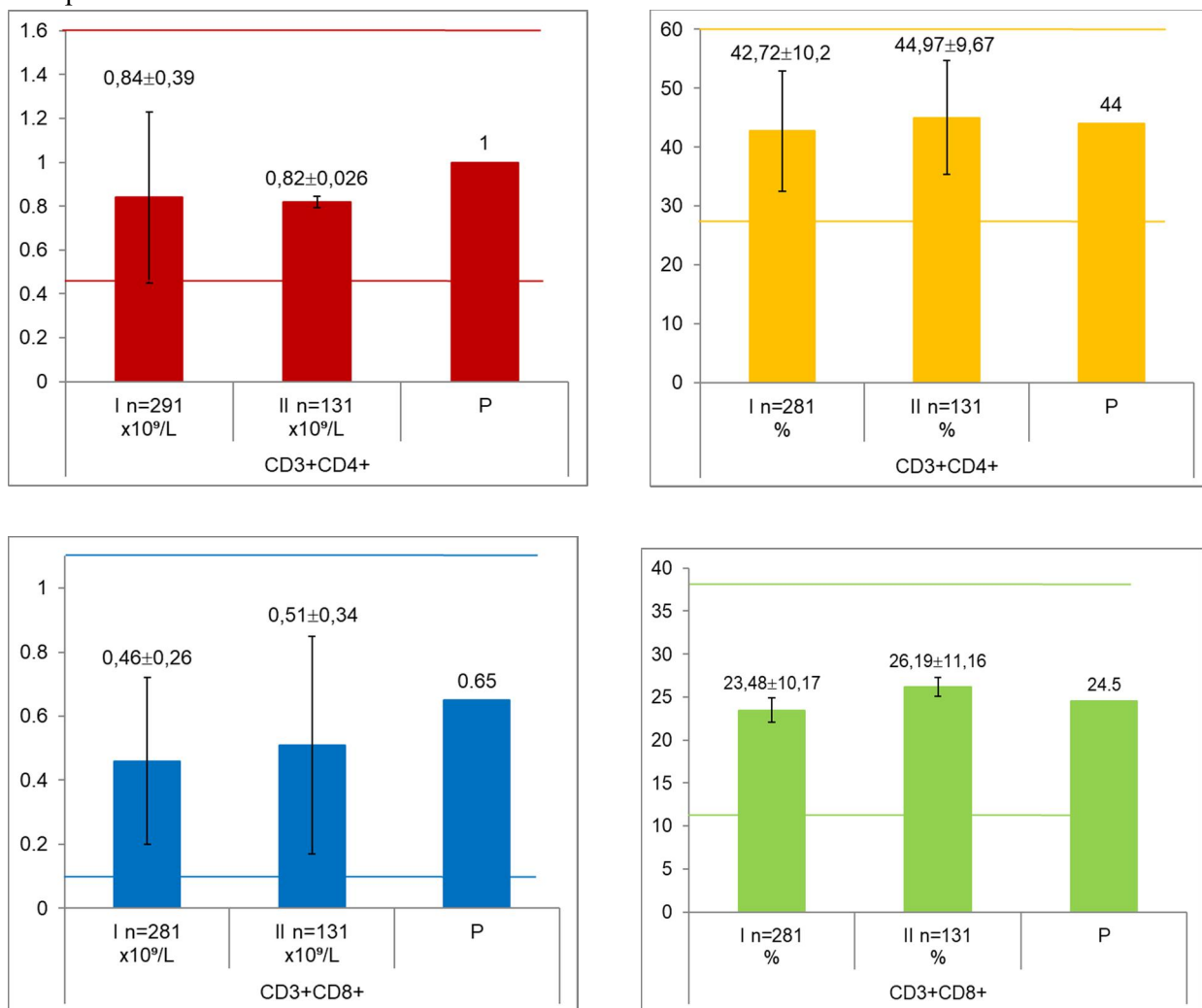


И при първото, и при второто измерване на НК клетки (CD56+) се отчита отново статистически значимо понижение на абсолютния им среден брой (съответно 0,35 и $0.25 \times 10^9/L$) спрямо сравняваната средна референтна стойност - $0.4 \times 10^9/L$ ($p=0.000$). При предоперативното отчитане се установява, че процентът на CD56 статистически значимо се повишава с 4.89% спрямо съпоставената референтна стойност – 15 % ($p=0.000$). Но при второто измерване средните нива на естествените килъри намаляват по брой и процент.

7.2. Т-лимфоцитни субпопулации – пред- и пост-оперативни находки при торакотомирани болни за карцином на белия дроб

При втората група изследвани клетки, измерването на лимфоцитните субпопулации на Т хелперно-индусерните лимфоцити (CD3+CD4+) доказва, че абсолютният им среден брой при първото измерване е $0.84 \pm 0.39 \times 10^9$ клетки/L, а при второто измерване е $0.82 \pm 0.26 \times 10^9$ клетки/L. И при двата показателя се регистрира статистически значимо понижение спрямо съпоставената референтна стойност – $1 \times 10^9/L$ за CD3+CD4+ ($p<0.05$) (фиг. 25).

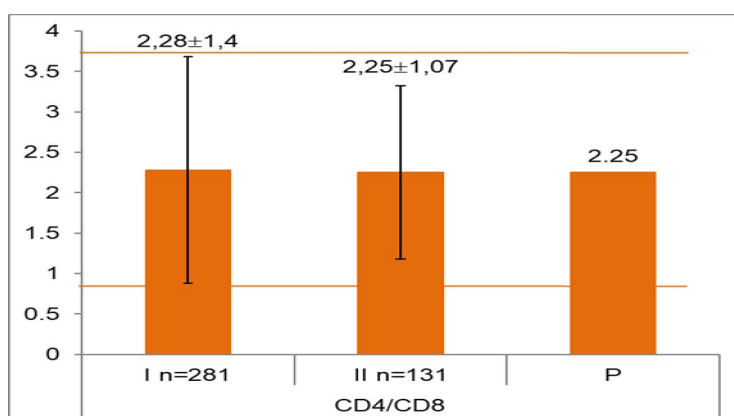
Фиг. 25. Лимфоцитни субпопулации на Т клетките - съпоставка със средни референтни стойности (P) - предоперативно (I-во) и постоперативно (II-ро) измерване



При отчитането на Т-супресорно-цитотоксичните клетки (CD3+CD8+) отново се определи, че средните стойности при първото измерване - $0.46 \pm 0.34 \times 10^9/L$ и при второто - $0.51 \pm 0.29 \times 10^9/L$, са също статистически значимо по-ниски от сравняваната средна референтна стойност - $0.65 \times 10^9/L$ ($p < 0.05$). При съпоставянето на намерените средни проценти за този показател се откриха значителни отклонения спрямо сравняваната средна референтна стойност ($=24.5\%$) при 90% достоверност на резултатите.

Констатира се, че индексът CD4/CD8 при първото измерване е 2.28 ± 1.41 , а при второто е 2.25 ± 1.07 , като спрямо съпоставената средна референтна стойност (2.25) той е понижен, но не статистически значимо ($p > 0.05$) – фиг. 26.

Фиг. 26. CD4+/CD8+ индекс пред- и пост-оперативни стойности при пациенти с торакотомии



7.3. Корелация между основните лимфоцитни популации и субпопулации и наличието на ранни усложнения при торактомирани пациенти

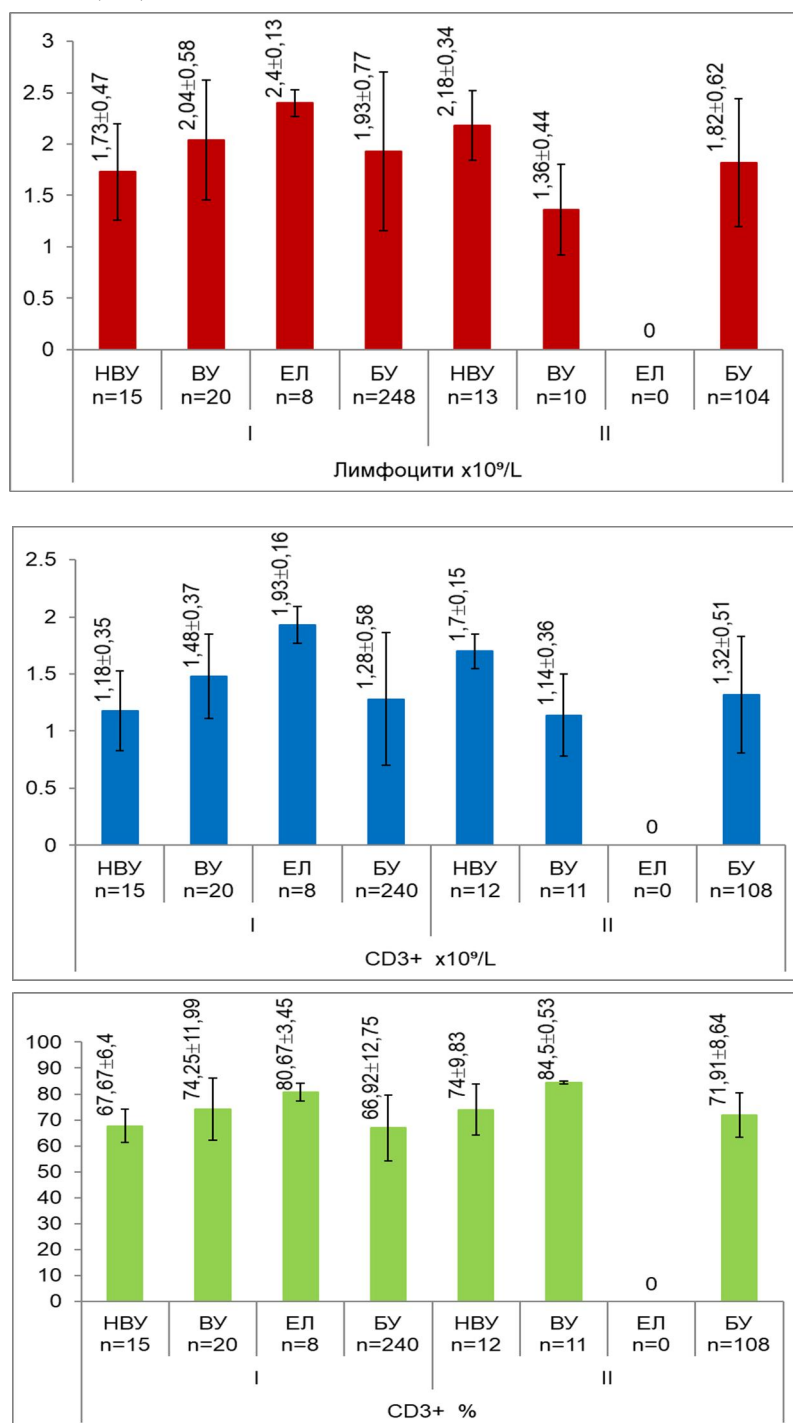
На фиг. 27 са съпоставени средните нива на основните лимфоцитни популации и субпопулации при пациентите без усложнения, с невъзпалителни, с възпалителни усложнения и екзитираните. Видно е, че предоперативно общият брой на лимфоцитите е най-висок при екзитираните случаи – $2.40 \pm 0.13 \times 10^9$ лимфоцити/ L, а най-ниско е нивото им при изследваните с невъзпалителни усложнения – $1.73 \pm 0.47 \times 10^9$ лимфоцити/L. Не се отчита статистически значима междугрупова разлика за този показател при първо измерване ($P > 0.05$). При постоперативното измерване най-високото отчетено ниво на абсолютния среден брой на лимфоцитите е при случаите с невъзпалителни усложнения – $2.18 \pm 0.34 \times 10^9$, а най-ниско при пациентите с възпалителни усложнения - $1.36 \pm 0.44 \times 10^9$ лимфоцити. При това измерване междугруповото различие при общия брой лимфоцити е статистически изразимо ($p = 0.011$).

При предоперативното измерване на общия брой на Т имунокомпетентни клетки CD3+, се установява, че най-високото ниво се регистрира също при екзитираните пациенти – $1.93 \pm 0.16 \times 10^9$ клетки/L. При отчитане на процента на този показател се констатира същата тенденция – $80.66 \pm 3.45\%$. Най-ниското ниво на CD3+ при това измерване и за общия брой, и за процента на променливата, се регистрира при

изследваните с невъзпалителни усложнения. Намерените междугрупови различия за този показател при първото измерване са статистически изразими ($p>0.05$).

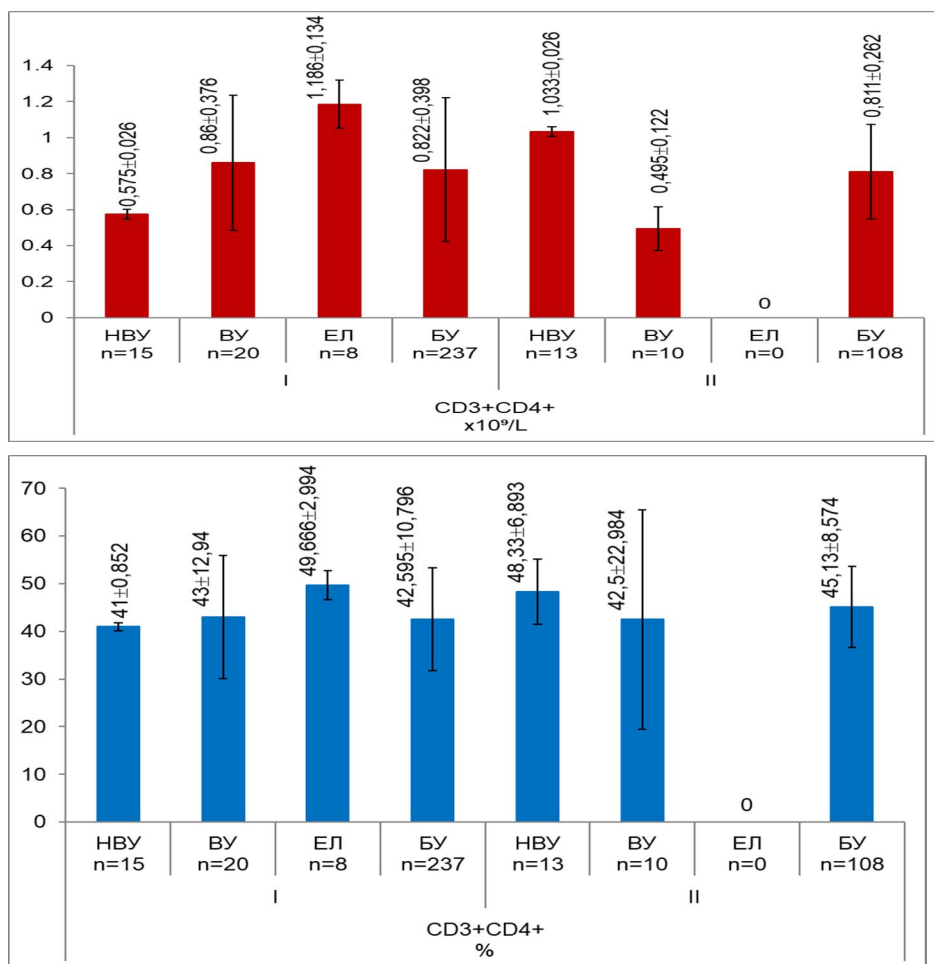
При постоперативното измерване на общия брой на CD3+ най-ниското ниво е регистрирано при случаите с възпалителни усложнения – $1.14 \pm 0.36 \times 10^9/L$, но пък при отчитане на процента на тази променлива той е най-висок в тези случаи – $84.50 \pm 0.53 \times 10^9/L$. Отчетената междугрупова разлика за процентите на CD3+ клетките при постоперативното измерване е статистически изразима ($p=0.000$).

Фиг. 27. Сравнение на общи лимфоцити и имунокомпетентни CD3+ Т клетки при случаите с ранни усложнения (възпалителни - ВУ, невъзпалителни - НВУ и екзистирани - ЕЛ) и без усложнения (БУ)



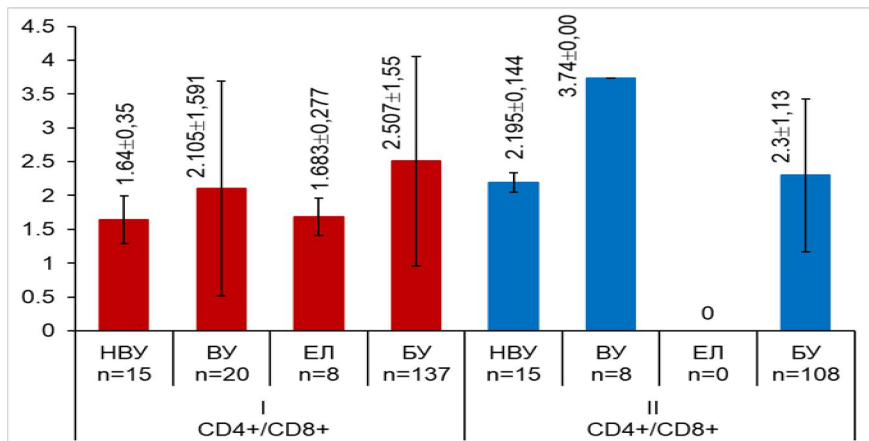
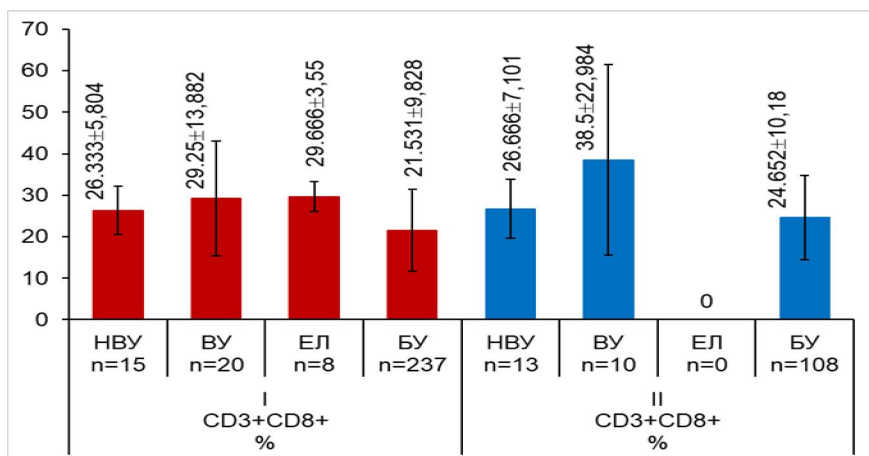
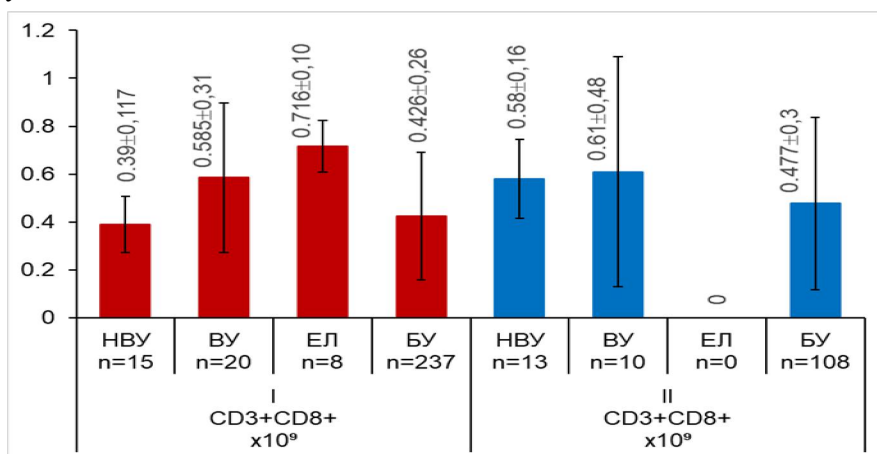
На фиг. 28 и фиг. 29 са представени данните за абсолютния брой и относителния дял на субпопулациите на Т лимфоцитите съобразно наличието или отсъствието на ранни пост-оперативни усложнения. При предоперативната съпоставка на субпопулацията на Т хелперните клетки (CD3+CD4+) се установява, че екзитиралите случаи са с най-висок общ брой – $1.19 \pm 0.13 \times 10^9/L$, а най-ниското измерено ниво е при случаите с невъзпалителни усложнения – $0.58 \pm 0.03 \times 10^9/L$, като намереното междугрупово различие е статистически значимо ($p=0.003$) (фиг. 28). Същата закономерност се установява при отчитане на показателя като процент, но тук намереното междугрупово различие не е статистически значимо ($p>0.05$). При постоперативното измерване Т хелперните клетки са най-високи в случаите с невъзпалителни усложнения и най-ниски в случаите с възпалителни усложнения, като това се отнася както за абсолютния брой, така и за процента на променливата. Отново междугруповото различие за общия брой на тази променлива е статистически изразимо ($p=0.00$), а при междугруповата съпоставка на процента на CD3+CD4+ не се регистрира сигнификантно различие ($p>0.05$).

Фиг. 28. Сравнение на абсолютен брой и относителен дял на CD3+CD4+ хелперно/индусерни Т клетки при случаите с ранни усложнения (възпалителни -ВУ, невъзпалителни - НВУ и екзитирали -ЕЛ) и без усложнения (БУ)



При междугруповата съпоставка на първото измерване на Т супресорно-цитотоксични клетки (CD3+CD8+) най-високите средни нива, както на абсолютен брой, така и на процента, са регистрирани при екзитираните случаи (фиг. 29). При абсолютния брой най-ниското ниво на CD3+CD8+ се констатира при случаите с невъзпалителни усложнения - $0.39 \pm 0.12 \times 10^9$ клетки/L, а при отчитане на процента на този показател най-ниското ниво е при случаите без усложнения – $21.53 \pm 9.83\%$, следвани от случаите с невъзпалителни усложнения – $26.33 \pm 5.80 \%$.

Фиг.29. Сравнение на супресорно-цитотоксичните Т клетки и индекса CD4+/CD8+ при случаите с усложнения (възпалителни, невъзпалителни и екзитиранли) и без усложнения



При първото измерване намерените междугрупови различия за абсолютния брой и процента на CD3-CD8+ са статистически изразими ($p>0.05$). При постоперативното измерване най-ниските нива на CD3-CD8+ са измерени при случаите без усложнения, а най-високи са при тези с възпалителни усложнения. Отчита се сигнификантно различие, когато променливата се интерпретира като процент ($p<0.05$).

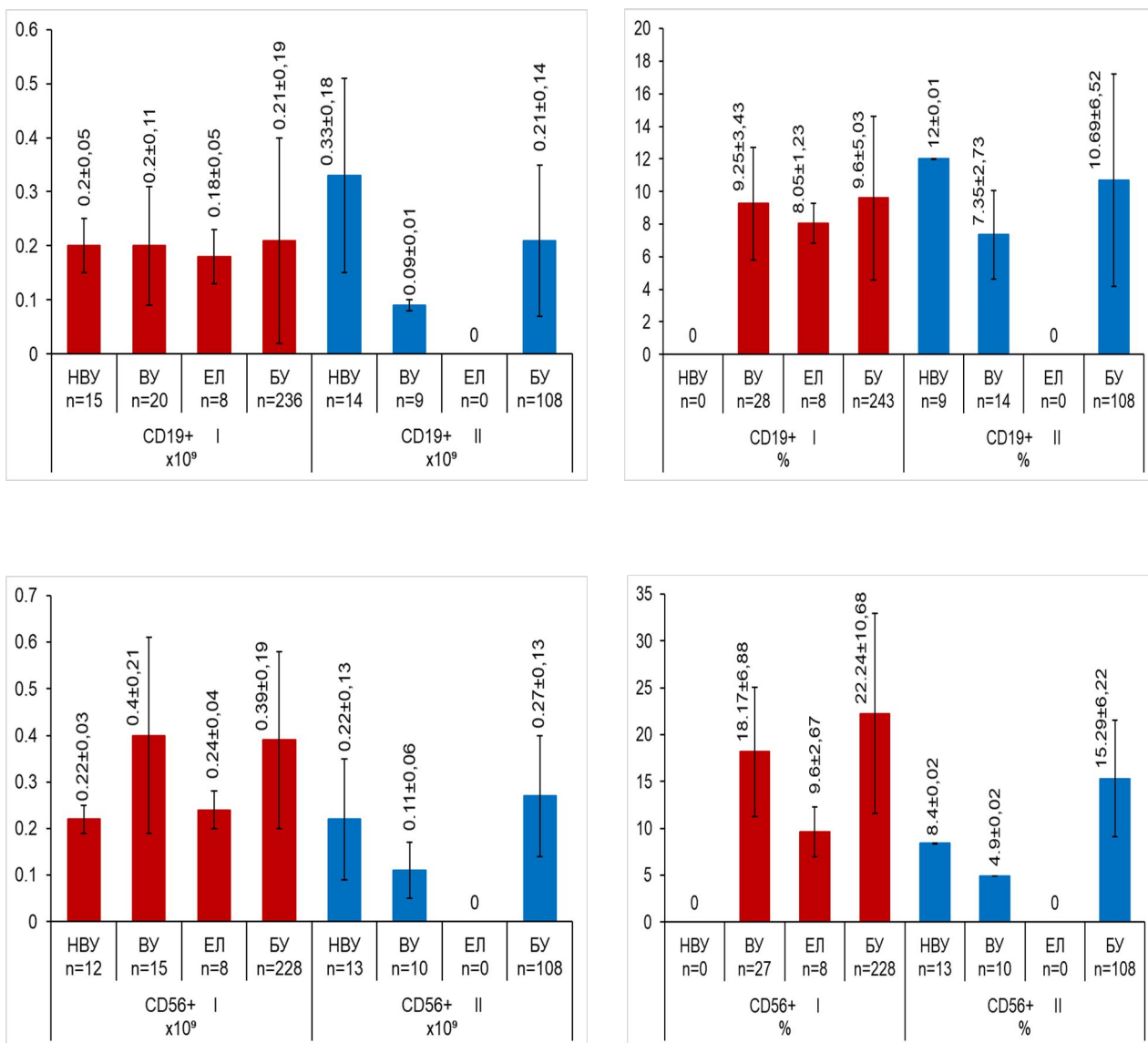
При измерването на индекса CD4+/CD8+ двете най-ниски нива са регистрирани при случаите с екзитус (1.68 ± 0.28) и при пациентите с невъзпалителни усложнения (1.64 ± 0.35). Най-високо е предоперативното ниво на този индекс при случаите без усложнения (2.51 ± 1.55). Намереното междугрупово различие при предоперативното измерване при този индекс е статистически значимо при 90 % достоверност на резултатите ($p=0.058$).

Следоперативно най-високото отчетено ниво на CD4+/CD8+ е регистрирано при случаите с възпалителни усложнения (3.74 ± 0.12), а най-ниско отново е при случаите с невъзпалителни усложнения (2.20 ± 0.14). Намереното междугрупово различие при постоперативното измерване на индекса е статистически изразимо ($p=0.032$).

На фиг. 30 е показано, че предоперативно най-ниското ниво на В клетки – CD3-CD19+, се регистрира при екзитиралите, следвани от случаите с възпалителни усложнения. Това се отнася както при измерване на общия брой, така и при отчитане на процента на CD3-CD19+. При това измерване междугруповото различие не е статистически значимо ($p>0.05$). При постоперативното отчитане на CD3-CD19+ няма регистрирани измервания на показателя при екзитирали пациенти, в резултат на което най-ниското отчетено ниво вече е при случаите с възпалителни усложнения, като междугруповото различие на общия брой на CD3-CD19+ е статистически изразимо ($p=0.001$). При съпоставката на процентните различия за този показател не се установи статистически значима разлика ($p>0.05$).

При измерване на общия брой NK клетки (CD3-CD56+) предоперативно най-ниското измерено ниво се регистрира при екзитиралите пациенти, следвани от случаите с невъзпалителни усложнения, а най-високо е нивото на този показател при пациентите с възпалителни усложнения. При постоперативното измерване на CD3-CD56+ тази променлива не е измерена при починали пациенти и затова не можем да сравняваме тази група с останалите. Най-ниското ниво, както за общия брой, така и за процента, при второто измерване се регистрира при случаите с възпалителни усложнения, а най-високо е при пациентите без усложнения. Намерените междугрупови различия и при двата вида отчитане на CD3-CD56+ са статистически изразими ($p<0.05$).

Фиг.30. Сравнение между абсолютен брой и относителен дял на В лимфоцити и НК клетки при случаите с усложнения (възпалителни, невъзпалителни и екзистирани) и без усложнения



На таблица 7 са дадени корелационните зависимости между наличието на постоперативни възпалителни усложнения и основните лимфоцитни популации. Установяват се шест статистически значими корелации между анализираниите показатели ($p < 0.05$). Положителните корелации са съответно между: възпалителните усложнения и CD3 % при първо измерване ($r_s = 0.166$, $p = 0.018$, слаба по сила корелация), както и между CD3 % - второ измерване, и наличие на усложнения ($r_s = 0.400$, $p = 0.000$, средна по сила зависимост).

Трябва да се обърне и внимание на още една интересна положителна корелация, която е изразена при 90% достоверност на резултатите. При предоперативното измерване това е зависимостта между възпалителните усложнения и абсолютния брой на CD3 - първо измерване ($r_s = 0.154$, $p = 0.051$).

Показателите от основните лимфоцитни популации, чиито следоперативно понижаване корелира с наличието на постоперативни усложнения са CD3-CD 56+ и CD3-CD 19+. И двете установени корелации при CD3-CD 56+ са отрицателни по посока и средни по сила, т.е. понижаването на променливата се асоциира с наличието на постоперативни възпалителни усложнения: CD 56+ абсолютен бр. и усложнения (второ изследване) $r_s = - 0.397$, $p = 0.000$ и CD56 % и усложнения (второ изследване) $r_s = - 0.332$, $p = 0.002$. Намерената корелация между CD 19+ абсолютен брой и усложненията е отрицателна по посока и средна по сила ($r_s = - 0,308$, $p = 0,02$).

Таблица 7. Корелации между наличието на постоперативни възпалителни усложнения и основните лимфоцитни популации

Корелационни зависимости	Ly I абс.б р	Ly II абс.б р	CD3 ⁺ I абс.б р	CD3 ⁺ II абс.б I %	CD3 ⁺ II абс.б II %	CD19 ⁺ I абс.б р	CD19 ⁺ II абс.б %	CD19 ⁺ II абс.б %	CD19 ⁺ II абс.б %	CD56 ⁺ I абс.б п	CD56 ⁺ II абс.б %	CD56 ⁺ II абс.б п	CD56 ⁺ II абс.б п		
Пост-оперативни възпалителни и усложнения	rs	0,079	0,163	<u>0,154</u>	<u>0,166*</u>	0,087	<u>0,400</u> **	0,051	0,017	= <u>0,308*</u> -	- 0,13 7	- 0,061 8	- 0,08 8	= <u>0,397*</u> -	= <u>0,332*</u> -
	p	0,250	0,112	<u>0,051</u>	<u>0,018</u>	0,399	<u>0,000</u>	0,472	0,814	<u>0,002</u>	0,20 3	0,406 8	0,25 8	<u>0,000</u>	<u>0,002</u>
	Бр	212	96	<u>204</u>	<u>204</u>	96	<u>100</u>	200	184	<u>100</u>	88	188	168	<u>92</u>	<u>84</u>

** Корелацията е сигнификантна при ниво на значимост 0.01.

* Корелацията е сигнификантна при ниво на значимост 0.05.

От изследваните 10 десет корелационни зависимости между наличието на постоперативни възпалителни усложнения и лимфоцитните субпопулации на Т-клетките, се установяват три сигнификантни корелации ($p < 0.05$). Положителните корелации, намерени между променливите, са между усложненията и:

- 1) първото измерване на супресорно-цитотоксичните CD3+CD8+, ($r_s = 0.166$, $p = 0.018$, слаба зависимост);
- 2) второто изследване на индекса CD4+/CD8+ ($r_s = 0.332$, $p = 0.002$, средна по интензитет зависимост).

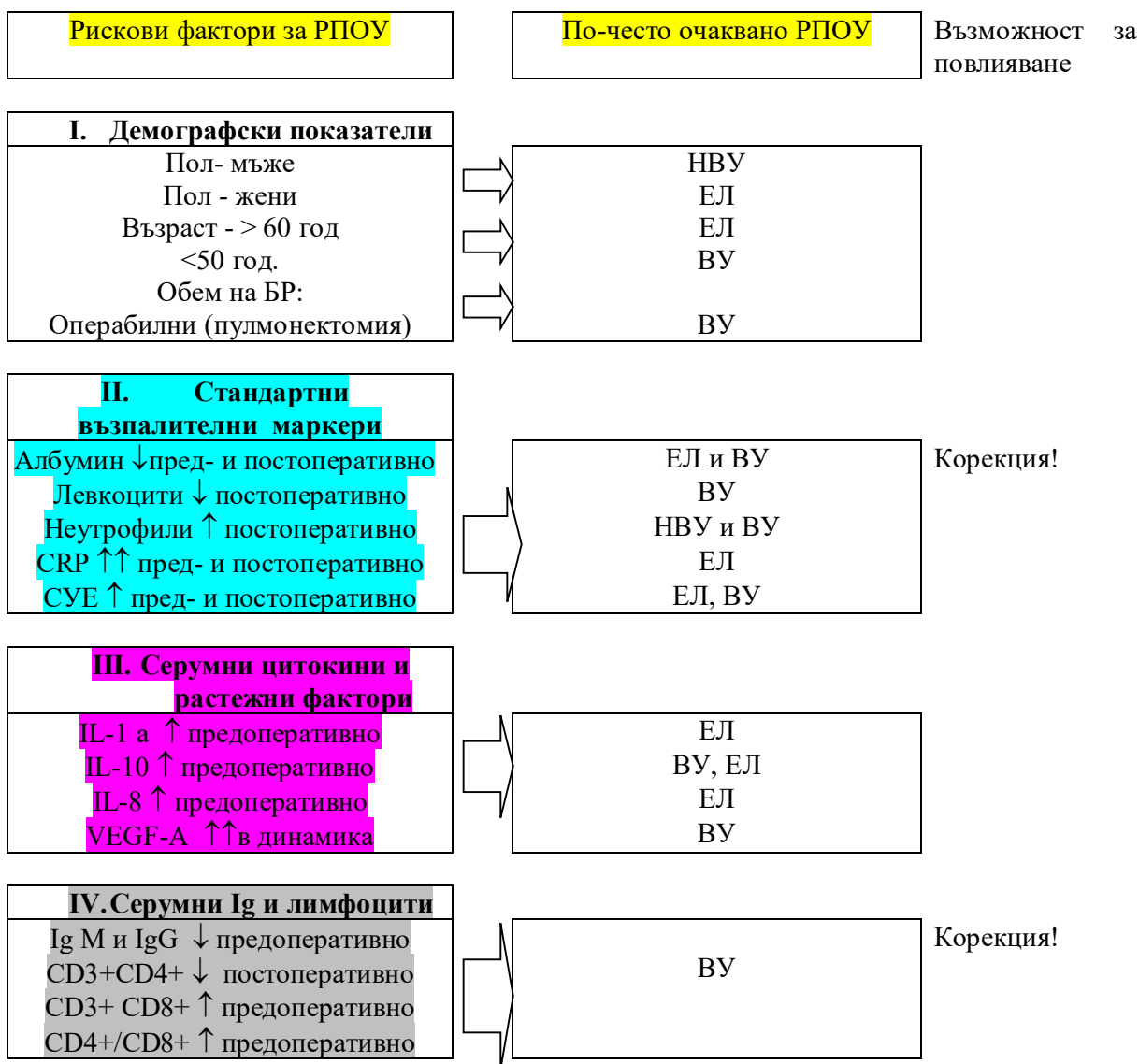
Повишаването на по-горе споменатите променливи се асоциира с висок риск от настъпване на постоперативни възпалителни усложнения.

Единствената установена отрицателна корелация е между CD3+ CD4+ абсолютният брой (второ измерване) и възпалителните усложнения ($r_s = - 0.349$, $p = 0.000$, средна по сила).

8. Комплекс от възпалителни и имунологични маркери за прогнозиране на ранни пост-оперативни усложнения

На базата на получените и анализирани резултати предлагаме комплекс от маркери с прогностична роля за възникването на ранни пост-оперативни усложнения (фиг.31).

Фиг. 31. Рискови фактори за възникване на РПОУ при торакотомии за белодробен карцином



ОБСЪЖДАНЕ

1. Анализ на възрастовите, полови особености и обема на белодробна резекция при изследваните пациенти

Средната възраст при пациентите с торакотомии за рак на белия дроб в нашето проучване – 63 год., съвпада и с установената от финландски автори – 65,8 год. (*Gunn J и съавт., 2018*) и някои американски колективи за подобен контингент болни – 60-64,9 год. (*Puri V и съавт., 2010; Berry MF и съавт., 2012*). Съобщава се, че по-напредналата възраст, заедно с хистологията за аденокарцином и пулмонектомията, са по-лоши прогностични фактори за преживяемост на болните с белодробен карцином (*Puri V и съавт., 2010*).

Нашите данни относно средната възраст на болните с белодробен рак, подлежащи на торакотомии, обаче не потвърждават настоящата тенденция в САЩ за доказване на заболяването предимно в по-късна възраст - 70-79 години, докато през 80-те години на миналия век най-висока честота се е наблюдавала при 60-годишните. Според данни на Американското дружество на гръдните хирурзи средната възраст на около 30 хил. болни с белодробни резекции в САЩ за периода 2002-2013 г. е 73 год. (*Fernandez FG и съавт., 2017, Onaitis MW и съавт., 2018*). Вероятно обяснение за по-младата възраст на нашите пациенти с торакотомии по повод белодробен рак може да се търси в липсата на значителни положителни промени в здравословните навици и профилактиката на българското население през последните декади, които обуславят появата на заболяването в по-млада възраст у нас в сравнение с други страни.

При нашето проучване мъжете в сравнение с жените са обект на по-чести оперативни интервенции (над 5 пъти повече) за белодробен карцином, което се обяснява с наличието на по-голямата сред тях честота на заболяването поради ХОББ, тютюнопушене и професионални вредности (*Михайлова Ж, 2017*). Както в света, така и според Националния раков регистър на България за 2014 и 2015 г. белодробният карцином е с най-високо процентно разпределение при злокачествените заболявания у мъжете (18.2%) и е най-честата причина за смърт от злокачествени заболявания при същия пол (26.2%) (*Валерианова З и съавт., 2017*). Това маркира и рискът мъжете да бъдат оперирани по повод карцином на белия дроб като статистически по-висок спрямо този при жените. Tong et al. установяват, че големите белодробни резекции водят до по-висок морбидитет и морталитет в сравнение със сублобарната резекция (*Tong BC и съавт., 2014*).

Въпреки безспорния факт за засягане предимно на мъжкия пол от белодробен карцином, мащабно 10-годишно проучване в Испания на хоспитализираните пациенти с това заболяване доказва намаляване на относителния дял на заболелите мъже и увеличаване на този при жените за периода 2001-2011 год. (*Palacio Nebreda MM и съавт., 2016*). Тенденцията се потвърждава и в САЩ, където не само честотата на жените с белодробен рак се повишава, но и смъртността от него при този пол се увеличава поради множество рискови фактори - тютюнопушене, молекулярни промени, рецептори за растежни фактори, хормонални влияния, различия в цитохром Р-450 ензими и репарационен капацитет на ДНК (*Rivera MP, 2013*). Американското дружество на гръдните хирурзи доказва, че разликата в честотата при двата пола,

оперирани за това заболяване, намалява в полза на мъжете – 48% (*Fernandez FG и съавт., 2017; Onaitis MW и съавт., 2018*).

Установено е, че при жените, подлежащи на белодробни резекции за карцином на белия дроб, пост-оперативните усложнения и смъртност са значително по-редки в сравнение с мъжете (*Tong BC и съавт., 2014*). Това дава основание женският пол да се дискутира като прогностичен фактор за по-добра преживяемост след белодробни резекции, а мъжкият – като по-лош прогностичен признак за удължен престой и по-висок пери-оперативен леталитет.

Оперативният подход при белодробен карцином все още остава най-ефективният метод за лечение при резектабилни злокачествени тумори с минимален оперативен риск (*Gunn J и съавт., 2018*). Хирургичната резекция се препоръчва основно при недребноклетъчен карцином на болни с I-ви и II-ри стадий на заболяването, както и на някои пациенти от III-ти стадий 1 (*Йорданов Д и съавт., 2007, Байчев Г., 2011*). Според проучване във Финландия при пациенти с белодробен карцином резекцията се извършва в 14.4% от болните, но и честотата на видео-асистираната хирургия се увеличава до 30% от пациентите (*Gunn J и съавт., 2018*).

При значителна част (54,1 %) от включените в нашето проучване пациенти с торакотомии за белодробен карцином лобектомията е била водещата хирургична интервенция при оперираните. В гръдната хирургия тя все още остава главният терапевтичен поход при повечето пациенти с белодробен, предимно не-дребноклетъчен карцином в ранен стадий независимо от възможностите за роботизиране и видео-асистиране (VATS) (*Fernandez FG и съавт., 2017; Berry MF и съавт., 2012, Байчев Г., 2011*).

Малкият брой сегментектомии през проучения от нас период може да се обясни с факта, че болните постъпват в по-късен стадий на развитие на тумора и с по-големи размери, които не са показани за сублобарна резекция. Извършените сегментектомии в проучването са прилагани при болни с ранен стадий на недребноклетъчен карцином и с диаметър < 1 см съгласно общоприетите препоръки за такъв тип интервенция (*Dziedzic R., 2015; Subotic D и съавт., 2009*) и като относителен дял са съпоставими с други автори (*Fernandez FG и съавт., 2017*). При проучвания от нас контингент няма данни за извършени билобектомия и “sleeve” лобектомия. Техният относителен дял сред резекциите за белодробен карцином е нисък според проучванията на други европейски и американски автори (*Fernandez FG и съавт., 2017, Gunn J и съавт., 2018*). В допълнение на това клиновидната резекция, сегментектомията, билобектомията и пулмонектомията при рак на белия дроб се асоциират с повишен риск за постоперативни усложнения и леталитет в сравнение с лобектомията (*Chataigner O и съавт., 2008; Subotic D и съавт., 2009; Onaitis MW и съавт., 2018*).

В нашата клиника иноперабилните болни с първичен белодробен карцином (20.8 %), са били в напреднал (най-често IV) стадий на развитие, поради което не е било възможно извършването на белодробна резекция, а експлоративната торакотомия е била с цел биопсия за хистологична диагноза. Тези пациенти са със сериозна прогноза, която зависи и от възрастта, стадия на развитие, провежданата лъче-, химио- или биологична терапия (*Urvay SE и съавт., 2016*).

2. Ранни постоперативни усложнения при пациенти с торакотомии за първичен белодробен катрцином

Agostini P (2010) и LaPar DJ (2011) доказват като рискови фактори за белодробните следоперативни усложнения при торакотомии напредналата възраст, нарушената пред-оперативна функция на белите дробове, придружаващи кардиоваскуларни заболявания, тютюнопушене, наличие на ХОББ и имуносупресивен статус (Agostini P и съавт., 2010; LaPar DJ и съавт., 2011).

Ранните следоперативни усложнения в нашето проучване (16.3%) сред оперираните по повод белодробен карцином представляват сравнително нисък относителен дял в сравнение с проучванията на други автори. Средната честота на постоперативните усложнения в гръдната хирургия е около 30%, варирайки от 7% до 49% (Stephan F и съавт., 2010; Birim O и съавт., 2003; Pei G и съавт., 2014; Feczko A и съавт., 2017). Тези различия се дължат на вида на изследваните усложнения, клиничните критерии за тяхното определяне, времето на появявата им и обема на белодробната резекция.

Подобно на настоящето проучване върху постоперативните усложнения е извършено в нашата клиника преди повече от една декада за периода 2001-2005 г., когато са анализирани пациенти с торакотомии за недребноклетъчен карцином (Учиков А и съавт., 2009). Тогава усложнения са наблюдавани при 63 (19,61%) болни, като най-честите са били ателектазата на белия дроб (12%) следвана от възпалителните усложнения – супурация на оперативната рана и следоперативния емпием (4.37%). Новите данни показват, че следоперативните усложнения при радикално оперираните пациенти с белодробен рак бележат тенденция за известно намаление на процента им. За разлика от предходния период сега преобладаващи са възпалителните следоперативни усложнения, което маркира необходимостта от предоперативно прецизиране на болните и по-адекватна пери-оперативна подготовка. Сред изолираните бактерии при изследваните болни с възпалителни следоперативни усложнения е и първият доказан за страната *Pseudomonas putida*, продуцент на VIM- бета лактамаза, която е отговорна за резистентност към стратегическите карбапенемни антибиотици (Petrova A и съавт., 2017).

Леталният изход при нашите 8 болни до 7-я ден във всичките случаи се дължи на сърдечна декомпенсация и като относителен дял е съпоставим с данните на други автори (Birim O и съавт., 2003; Pei G и съавт., 2014).

Анализът на данните показва, че при иноперабилните пациенти относителният дял на ранните усложнения е значително по-нисък. Това вероятно се дължи на естеството на хирургичната интервенция при тези случаи, която най-често е експлоративна торакотомия с цел биопсия и е значително по-щадяща в сравнение с белодробната резекция. С най-висока честота на РПОУ са пациентите с пулмонектомия и лобектомия. Тя е съпоставима с данните на други автори и варира от 10 до 50% при различните проучвания. По-голямата продължителност на оперативната техника при лобектомия и пулмонектомия създава предпоставки за нарушена органна функция и възникване на екзогенни инфекции (Ziarnik E и L. Grogan, 2015; Kim SH 2013). Следоперативна пневмония е наблюдавана при единични наши пациенти. В други

проучвания тя също е с ниска честота (6%) (*Ziarnik E u L. Grogan, 2015*). При малкото болни със сегментектомии не сме наблюдавали РПОУ.

3. Маркери на възпаление при пациенти с торакотомии и корелации с РПОУ

Белодробният карцином се съпътства с хроничен бронхит и хронична обструктивна белодробна болест, които са асоциирани с възпалителен процес и имат няколко общи рискови фактори и патофизиологични механизми (*Barnes PJ u BR Celli, 2009*). В настоящето проучване изследваните маркери на възпалението при пациенти с торакотомии могат да насочат към прогнозиране на някои ранни постоперативни усложнения и преживяемостта на болните.

Преди операцията при нашите болни албуминът се наблюдава в референтни граници при 232 (86.6 %) от тях, а след торакотомията той е в норма едва при 24 (33.3 %) от случаите. Това категорично подсказва, че понижението на показателя трябва да се взема под специално внимание при този тип болни и тези интервенции. Тенденцията за намаление на серумните стойности на албумина при операбилните и неоперабилните болни, както и предоперативното понижение на албумина, най-значимо при екзитиралите пациенти и тези с възпалителни РПОУ, е сигнал за необходимостта от адекватни лечебни мерки по отношение на възстановяване на неговия резерв. При онкологични заболявания вероятно се изчерпват запасите на албумин в организма, като е възможно хирургичната интервенция още повече да задълбочава този процес. Нашите данни корелират с изследванията на други автори, които установяват, че пациентите с резекция по повод на НДКРБД и високи нива на пре-албумин имат по-дълга преживяемост в сравнение с тези с ниски стойности (*Alifano M u съавт., 2014; Miura K u съавт., 2017*). Li и съавт. установяват, че периоперативното намаление на серумния албумин с под 14.7% дори и при болни с VATS за белодробен рак, е предиктор за развитието на белодробни усложнения (пневмония, ателектаза, остър респираторен дистрес-синдром, белодробна емболия) (*Li P u съавт., 2018*). Според К. Икономова и колектив промяната в острофазовите протеини албумин и трансферин при коремно-гърдни операции се определя от тежестта на оперативната интервенция и основното заболяване на пациентите. Те са по-значими стимули за острофазовия имунен отговор, отколкото промяната в нутритивния статус (*К. Икономова и съавт., 2004-А*).

При нашите болни предоперативно увеличеният левкоцитен брой убедително показва, че може да се използва като предиктивен маркер на възпалителни усложнения, докато увеличението на неутрофилите се наблюдава и при болни с невъзпалителни усложнения. В допълнение на това, левкоцитите са по-ниски при иноперабилните болни при двете измервания, а неутрофилите - значително по-високи при предоперативното измерване и по-ниски при следоперативното в сравнение с операбилните. Възможно е напредналият стадий на туморния процес при иноперабилните болни да индуцира имунна толерантност с по-ниска реактивност на левкоцитите. При включените в нашето проучване пациенти са подбрани само тези, които са с липсващи клинични и образни данни за активна инфекция предоперативно, обуславяща левкоцитоза. Установено е, че тумор-свързаната левкоцитоза е паранеопластичен синдром и се наблюдава при пациенти с белодробен карцином (НДКРБД) (*Kasuga I u съавт., 2001*). Допуска се, че тя е резултат от засилената продукция на хемопоеични цитокини – G-CSF, GM-CSF, IL-6, съпътстващи инфекции, костни

метастази и се асоциира с по-лоша прогноза. По-високите следоперативни нива на неутрофилите при операбилните болни могат да се обяснят с по-тежкото тъканно увреждане при извършената хирургична интервенция, индуциращо клетъчна реакция.

В нашето проучване повишението на CRP и СУЕ пред- и следоперативно се открива по-често в сравнение с повишените левкоцити и неутрофили. Приема се, че системното възпаление е негативен прогностичен маркер при пациенти с напреднал НДКРБД (*Jafri SH и съавт., 2013*). Следоперативното увеличение на CRP и СУЕ над горна референтна граница при повече от 90 % от наблюдаваните от нас случаи на торакотомирани пациенти с белодробен карцином приемаме като израз на възпалителен процес, повлиян и от хирургичната интервенция.

Увеличените CRP нива при некарциномни индивиди се свързват с по-висок риск от развитие на белодробен рак (*Shiels MS и съавт., 2013; Allin KH и съавт., 2009*). В проучването на Allin и съавт. от 11 предиктивни за възпаление биомаркери CRP се счита за най-добрият фактор, предсказващ риска от развитие на белодробен карцином (*Shiels MS и съавт., 2013*), а неговите нива при поставяне на диагнозата се асоциират с ранен морталитет дори и при пациенти без метастази (*Allin KH и съавт., 2009*). Интересни са и резултатите на Zeng и съавт., които посочват, че пациенти с по-високи предоперативни нива на CRP и фибриноген са с по-кратка преживяемост (*Zeng Q и съавт., 2017*). От друга страна, според някои изследователи концентрациите на този маркер не могат да прогнозира надеждно тежестта или изхода на заболяването, както и бързата диагноза и прогноза, защото е необходимо повече време за неговото позитивиране в сравнение с PCT (*Alifano M и съавт., 2014; Barnes PJ и BR Celli, 2009*). Това може да обясни по-ниската му чувствителност в ранния постоперативен период.

СУЕ е друг маркер на възпалението, който откриваме повишен и при двете измервания на торакотомираните пациенти, а също и предоперативно при неоперабилните болни, при екзистиралите и тези с възпалителни усложнения. В литературата намерихме оскъдни данни за неговата роля при прогнозиране на РПОУ при торакотомии. Други изследователи откриват, че повишените му стойности са един от предиктивните маркери заедно със загубата на тегло за по-кратката преживяемост на пациентите с бронхиален карцином (*Clee MD и съавт., 1984; Lund MB и съавт., 1992*).

Според Meisner постоперативното увеличение на PCT зависи от обема на оперативната интервенция – при дебелочревните и гръдните операции PCT е по-често повишен, докато при малките и първично стерилни операции е в нормални нива (*Meisner M и съавт., 1998-A*). Franke обаче посочва, че увеличението на PCT постоперативно е по-значително след лобектомия и клиновидна резекция в сравнение след пневмонектомия (*Franke A и съавт., 2008*). Изследвайки възпалителни маркери в първия следоперативен ден при пациенти, подлежащи на т. нар. големи хирургични интервенции, Mokart и съавт. доказват повишени нива на PCT и IL-6 като ранни показатели за развитие на постоперативен сепсис (*Mokart D и съавт., 2005*). Carboni и съавт. установяват, че PCT е по-добър лабораторен показател за мониториране на постоперативния период при пациенти след декортикация по повод плеврален емпием, тъй като намалява по-бързо следоперативно от CRP (*Carboni G и съавт., 2008*). Falcoz допълва, че PCT може да прогнозира по-добре от CRP инфекциозните усложнения в постоперативния период в гръдната хирургия, особено за SIRS (*Falcoz PE и съавт.,*

2005). Прокалцитонинът, измерен предоперативно в нашето проучване, показва категорична тенденция да бъде над горна референтна граница при голям брой от всички изследвани групи, което вероятно е резултат от наличието на неопластичен процес в организма, съпроводен с хронично възпаление. Заедно с албумина, и прокалцитонинът се откроява като маркер, чието понижение по-значително се проявява, когато на фона на онкологичното заболяване вече се извърши и торакотомия.

Макар че тези стойности са високи при всички изследвани пациенти с възпалителни следоперативни усложнения и екзитус, предоперативните нива на прокалцитонина обаче нямат ясен разграничаващ потенциал за прогнозиране на постоперативен възпалителен процес или екзитус, тъй като се установяват и при значителна част от болните без постоперативни усложнения. Нашите данни не противоречат на съобщаваните в литературата, защото при включените в проучването пациенти не е наблюдаван постоперативен сепсис, а възпалителните РПОУ са с ограничена локализация. При всички болни без усложнения, изследвани постоперативно, намаляването на нивата на РСТ съответства на клиничните данни за благоприятното възстановяване на пациентите в следоперативния период. Интересен факт е по-значителното увеличение на РСТ, предимно следоперативно, при иноперабилните болни в сравнение с иноперабилните. Ние считаме, че за РСТ трябва да бъдат установени очаквани нива за различните хирургични процедури, вкл. и в гръдната хирургия, преди този показател да се използва като индикатор за постоперативни усложнения.

4. Цитокинов профил при болни с торакотомии и връзка с развитието на РПОУ

Възпалителният отговор в туморната микросреда има двойствена роля. От една страна подпомага инхибирането на туморния растеж чрез увеличаване на цитотоксичната активност на Т клетките (*de Visser KL и съавт., 2006*), които ограничават пролиферацията на тумора. От друга страна, възпалението се поддържа от различни микробни агенти и аерогенни замърсители, които в увредения бял дроб водят до продукция на про-възпалителни цитокини, способни да индуцират клетъчна трансформация и развитие на туморен процес (*Li J и съавт., 2015; Zhou B и съавт., 2012*). Цитокините могат да подпомогнат развитието на тумора поне по 2 пътя: 1) стимулиране на клетъчния растеж и диференциация и 2) инхибиране на апоптозата на трансформирани клетки (*Lu H и съавт., 2006*).

Установените по-високи следоперативни концентрации на някои цитокини в нашето проучване, сравнени със средната им стойност, съответстват на съобщаваните в литературата тенденции. Най-показателни са следоперативните промени на изследваните параметри за IL-1a, IL-8 и IL-10. Редица изследвания на други автори също показват, че хирургичната травма вследствие на гръдна операция може да провокира системен цитокинов отговор с продукция на провъзпалителните цитокини IL-6 и TNF- α в ранния постоперативен период (*Sakamoto K и съавт., 1994; Szczesny TJ и съавт., 2007-Б; Shiels MS и съавт., 2013*). За разлика от минималните по обем оперативни техники в хирургията на белия дроб (напр. VATS), при торакотомите серумните концентрации на IL-6, IL-8 и CRP са по-високи (*Yim APC и съавт., 2000; Nagahiro I и съавт., 2001; Ng CSH & KKW Lau, 2015*). Това се обяснява не толкова с

различия в хирургичния достъп, колкото с продължителността на интра-торакалната интервенция.

В ранния пост-оперативен период VATS се асоциира и с по-слабо освобождаване на IL-10, който като Th-2 цитокин потиска клетъчния имунитет и подпомага туморните клетки да избягат от имунния отговор и цитотоксичността на NK клетките (*Yim APC и съавт., 2000; Ng CSH & KKW Lau, 2015*). Нашите данни показват, че след торакотомия този анти-инфламаторен цитокин се повишава в сравнение с пред-оперативната му нива.

Докато IL-1 β и TNF- α са необходими за ефективния клетъчен имунитет, IL-6 има роля в пост-оперативната имуносупресия. Той си взаимодейства с друг имуномодулаторен цитокин - инсулиновия растежен фактор (IGF), който стимулира раковата пролиферация и потиска апоптозата на туморната клетка. Взаимодействията между IL-6 и IGF предизвикват инхибиране на протеин 3, свързващ инсулиновия растежен фактор (IGFBP). IGFBP3 е естествен антагонист на IGF-1, като намалява активността на IGF-1 и това определя неговите анти-туморогенни свойства, доказани при дебелочревни, простатни и не-дребноклетъчни карциноми (*Ng CSH & KKW Lau, 2015, Sun Y и съавт., 2015*). В резултат, потискането на IGFBP3 може да улесни пролиферацията на някои типове карциноми, както е доказано за не-дребноклетъчните на белия дроб (*Chang KT и съавт., 2005; Chang YS и съавт., 2002*). Счита се, че високата активност на IGFBP3 в ранния постоперативен период след белодробна резекция редуцира риска от метастазиране, особено ако туморни клетки попадат в кръвната циркулация по време на операция. Би било добре да се проучат сравнително различията в серумните про-инфламаторни цитокини при отделните хирургични подходи за карцином на белия дроб за изясняване на риска от метастазиране и възникване на усложнения. IL-6 като цитокин - миокин, продукт на мускулната тъкан, инхибира производството на TNF- α и стимулира образуването на противовъзпалителните цитокини IL-10 и IL-1RA (*Ng CSH & KKW Lau, 2015*). Тези данни внушават, че вероятно торакотомията първоначално увеличава про-възпалителните цитокини, а след това и анти-възпалителните. Макар, че IL-6 е повишен при белодробен карцином (*Silva E и съавт., 2017*) и се счита за главния про-инфламаторен цитокин за прогресията на тумора при НДКБК, нашето проучване не установява статистическа достоверност на този показател при прогнозиране на ранните възпалителни усложнения след торакотомии.

Song XY съавт. показват, че серумните нива на про-възпалителните TNF- α , IL-6, IL-8 са доказано повишени при пациенти с НДКРБД в напреднал стадий на заболяването в сравнение с ранен стадий, както и сравнени със здрави контроли (*Song XY и съавт., 2013*). В допълнение на това Shang GS et al. установяват, че експресията на IL-6 и TNF- α е сигнификантно повишена в серума и в раковата тъкан, корелирайки положително с развитието на далечни метастази. Това дава основание на колектива да препоръча анти-възпалителна терапия в комплексното лечение на белодробния карцином (*Shang GS и съавт., 2017*).

Измерването на про- и анти-инфламаторните цитокини при пациенти с НДКРБД може да бъде полезно за оценка на инфламаторния статус и особено за ранна детекция на остро-фазовия отговор след торакотомии.

При вътре-груповото сравнение на торакотомираните пациенти с наличие или без усложнения доказахме, че предоперативните измервания на всички изследвани про-възпалителни цитокини са най-ниски при пациентите без усложнения, но същата подгрупа е с най-високи предоперативни концентрации за анти-инфламаторния IL-10. Високи серумни, но следоперативни нива на цитокини при торакотомирани болни с усложнения съобщават *Szczesny и съавт. (2007)*. Те установяват повишени концентрации не само на серумните, но и на нивата в плеврална течност на IL-6 и IL-1 α още в първия следоперативен ден и ги посочват като обещаващи ранни маркери за пост-оперативни усложнения. Интересни са получените от нас данни за по-ниските неколккратно серумни концентрации на IL-8 при торакотомирани болни без усложнения в сравнение с екзитиралите. Balla и съавт. откриват понижени IL-8 серумни нива при пациенти с белодробен рак в сравнение със здрави контроли, но те не ги изследват в зависимост от усложненията при торакотомия (*Balla MMS и съавт., 2016*). Те допускат, че високата пролиферативна активност при белодробен рак може да се асоциира с по-ниски нива на IL-8. Можем да предположим от нашето проучване, че IL-8 няма убедителен потенциал да разграничава пациенти с ранни пост-оперативни възпалителни усложнения от тези без усложнения.

Този комплексен подход за изследване на серумни цитокини при торакотомирани пациенти с първичен рак на белия дроб дава възможност за разширяване на бъдещи проучвания върху ролята на цитокините в следоперативния период, връзката им с клиничния стадий и оценяването им като независими маркери за прогнозата на ранните следоперативни усложнения при НДКРБД.

5. Значение на серумния растежни фактори VEGF-A и адхезионната молекула ICAM-1 при развитие на ранни пост-оперативни усложнения у пациенти с торакотомии

В извършеното проучване средните серумни нива на VEGF-A са повишени както предоперативно, така и следоперативно при пациенти с възпалителни усложнения в сравнение с болните без усложнения. По-високите следоперативните нива на VEGF-A, които откриваме, са в съгласие с W Tian и съавт., измерващи също най-високи концентрации в следоперативния период между 2 и 7 ден. Същите автори не установяват значими статистически различия в VEGF между пациенти с VATS и такива с традиционния отворен достъп, който използваме ние (*Tian W и съавт., 2014*). Различни са резултатите, съобщавани от Y Lai и съавт., че предоперативните нива на VEGF при болни с недребно-клетъчен белодробен карцином са значимо по-високи отколкото следоперативните, но горепосочените автори ги измерват по-късно - на 25-30 ден (*Lai Y и съавт., 2018*). Нашето изследване открива, че серумните VEGF-A концентрации са повишават много по-рано в следоперативния период. Така VEGF-A може да служи като прогностичен маркер за ранни пост-оперативни, особено възпалителни усложнения.

С получените данни ние разширяваме познанията за ролята на VEGF-A не само върху туморната ангиогенеза, но и за връзката им с развитието на ранни следоперативни усложнения при пациенти с белодробен карцином. VEGF-A може да бъде атрактивна мишена за терапевтични стратегии при това заболяване и да покаже

потенциал и в овладяването на ранните пост-хирургични усложнения (*Chekhonin VP и съавт., 2013; Chen Yu съавт., 2018; Frezzetti D и съавт., 2017*).

Анализирайки резултатите за ICAM-1, може да се отбележи, че подобна тенденция на увеличение на следоперативните серумни нива се наблюдава и при тази молекула. Но докато значително увеличените следоперативни серумни VEGF-A са по-индикативни за следоперативно усложнение, диагностичната роля на ICAM-1 в тези случаи остава под въпрос. Пред- и следоперативното измерване на молекулата при пациенти с или без усложнения не може да открие ясно нейното значение като биомаркер за ранни постоперативни усложнения. Някои автори считат ролята на ICAM-1 в развитието на белодробния карцином за оспорвана. Въпреки, че sICAM-1 се открива значително увеличена при пациенти с белодробен рак в сравнение със здрави индивиди, не винаги се доказва корелация между повишените ѝ нива и развитието на далечни метастази или преживяемостта на болните (*Gogali A и съавт., 2010; Guney N и съавт., 2008*). Според други тази молекула има потенциал като диагностичен или прогностичен маркер, тъй като нейната увеличена експресия при прогресия на белодробния карцином се свързва с по-лоша прогноза за преживяемост в сравнение с пациентите с по-ниски нива на sICAM-1 (*Gu X и съавт., 2012; Kotteas AE и съавт., 2014; Shin HS 2004*). ICAM-1 потенцира адхезията на белодробните ракови клетки към съдовия ендотел при хематогеното метастазиране, като по този начин избягва имунния отговор и осигурява ангиогенезата на тумора (*Aznavoorian S и съавт., 1993*). Подобно становище, че изходните ICAM нива може да прогнозират преживяемостта и отговора към химиотерапия при пациенти с белодробен карцином изразяват и други изследователи (*Dowlati A и съавт., 2008; Qian Q и съавт., 2011*). В нито едно от проучванията обаче не се изследва потенциалната роля на ICAM-1 като прогностичен маркер за ранни усложнения след торакотомия.

6. Роля на серумните общи имуноглобулини Ig Г, М и А при прогнозиране риска от развитие на РПОУ и оценка на имунния статус

Изследването на общите серумни имуноглобулини пред- и пост-оперативно при пациенти, подложени на торакотомия за белодробен карцином, би насочило хирурга към наличие на промени в придобития хуморален имунитет, които следва да бъдат коригирани. Считаме, че оперативната интервенция води до намаляване на серумните нива на имуноглобулините А, Г и М в сравнение с предоперативното им измерване, което може да бъде предпоставка за риск от развитие на инфламаторни усложнения. В допълнение на това при нашето проучване доказваме, че на фона на онкологичното заболяване по-ниските средни нива на серумните предоперативни и следоперативни IgG, както и предоперативните IgM, се асоциират с ранни възпалителни усложнения при оперираните. Изследванията върху серумните белтъци, вкл. имуноглобулини, при пациенти с белодробен карцином, са оскъдни и противоречиви. През 1977 г. Bata и колектив съобщават за увеличение на алфа-1-антитрипсин, хаптоглобин, IgA и IgG, докато IgM не се променя (*Bata J и съавт., 1977*).

При наличие на понижени серумни нива на IgG има възможност за заместителна терапия, която да възстанови липсващите концентрации и да осигури необходимата анти-инфекциозна защита при инфекции на долния респираторен

тракт или бронхиектазиите като техни усложнения (*Brent J и съавт., 2016*). Това определя и необходимостта от изследването на имунологичната реактивност преди и след оперативна интервенция, за да се проведе нужната имуномодулираща терапия.

Тенденция за по-ниски общи серумни имуноглобулинови концентрации се открива и от други автори при пациенти с белодробен карцином (*Liu CY и съавт., 2017*). Тези данни, корелиращи и с нашите, показват, че туморният процес се свързва с намаление на хуморалните имунни показатели, каквито са имуноглобулините.

Интересна находка в нашето изследване са регистрираните най-ниски следоперативно измерени нива на серумните Ig A при пациентите с ранни невъзпалителни усложнения. Най-високи са при болните с възпалителни усложнения след торакотомии. В литературата не намерихме подобни данни, а като цяло сигнификантни различия в този показател не се установяват между пациенти с белодробен карцином и хронични бронхити или бронхиектазии (*Atiş S и съавт., 2001*). По-голямо значение се допуска, че би имало определянето на секреторните Ig A (sIg A) в бронхиален секрет за оценка на степента на възпалителното увреждане в епитела (*Atiş S и съавт., 2001*) или серумните нива на секреторния компонент на Иг А (*Rossel M и съавт., 1993*). Считаме, че по-високите средни следоперативни концентрации на серумните IgA при ранните постоперативни усложнения са проява на усилен локален имунен отговор в белия дроб под влияние на инфламаторната реакция.

Нашите проучвания допълват изследванията на К. Икономова и колектив, които показват, че и при болни с карцином на стомаха в ранния постоперативен период (на 96-я час) концентрацията на серумните имуноглобулини намалява значимо, въпреки че отклоненията са в референтните граници и за трите имуноглобулинови класа (*К. Икономова и съавт., 2004-А*). Ние споделяме възгледа, че както оперативната интервенция, така и карциномът заедно и поотделно имат метаболитни и имуносупресивни ефекти.

7. Клетъчен имунитет при пациенти с торакотомии – прогностични аспекти за РПОУ

Развитието на туморния процес се контролира от клетъчния имунен отговор (*Опуета ОО и съавт., 2015*). Това ни мотивира да проследим пред- и следоперативно абсолютния брой и процента на Т, В и NK лимфоцитите като основни фактори на клетъчно-медираните имунни реакции.

Предоперативно при всички отчитани стойности на общия брой клетки на клетъчния имунитет се регистрира статистически значимо понижение спрямо всяка съпоставена средна референтна стойност, независимо, че са в референтни граници. Това говори за известно понижаване на клетъчния имунен отговор на организма, вероятно провокирано от онкологичното заболяване с тумор-индуцираната имуносупресия, особено върху Т-клетъчната популация (*Crespo и съавт., 2013*). При постоперативното измерване понижението на почти всички изследвани показатели се задълбочава, което считаме, че е резултат от допълнителното намаление на клетъчния имунитет на онкоболните в резултат на тежката хирургична интервенция (*Ng CS & Lau KK, 2015; Cata JP и съавт., 2013*). Важно да се отбележи, че при отчитане процента на тези показатели не се извеждат категорично същите констатации.

Подобни проучвания при пациенти с не-дребноклетъчен рак на белия дроб също откриват понижение на цитотоксично-супресорните Т клетки CD4-CD8+, на Т регулаторните лимфоцити, NK клетките, на В-лимфоцитите CD19+ и на съотношението CD4+/CD8+ в сравнение със здрави контрола на същата възраст, което дава основание да се предполага, че туморният процес супресира клетъчните имунни популации (Хи L и съавт., 2015; Zhang S и съавт., 2015; Saavedra D и съавт., 2016). Това се осъществява чрез секретирани от тумора инхибиращи фактори като трансформиращия растежен фактор (TGF)- β , IL-6, IL-10, циклоксигеназа-2 (COX-2) и продуктите ѝ простагландин E2 (PGE₂), PD1-лиганда, индоламин 2,3-диоксигеназа (IDO) (Gravekamp C и съавт., 2011). Въпреки намаления брой и процент на имунните клетки в периферната кръв, при изследване на туморна тъкан, взета интра-оперативно по време на торакотомия от пациенти с не-дребно клетъчен рак на белия дроб, е установено локално повишено наличие и активност на тумор-инфилтриращите лимфоцити (TIL) CD3+ и CD8+ (Куо SH и съавт., 1998).

Важен момент в нашите резултати обаче е предоперативното повишаване на относителния дял на NK клетките в сравнение със средната референтна граница. Това може да се обясни с наличието на тумора като индуктор за увеличаване активността на естествените клетки-убийци, които имат изразен директен антитуморен ефект и се увеличават при наличие на злокачествен процес (Crespo J и съавт., 2013; Наумова и Алтънкова, 2008; Zang S и съавт., 2015). Въпреки, че делът на NK клетките остава сравнително висок и при постоперативното измерване на показателя, както процентът, така и абсолютният им брой намаляват при второто измерване. Считаме, че с отстраняването на тумора се премахва хроничната стимулация на естествените клетки-убийци, а и самата оперативна намеса снижава клетъчната имунна реактивност. Значимо понижаване на NK клетките пост-оперативно още на 24 час след торакотомия при не-дребноклетъчен белодробен карцином установяват и други автори независимо от вида на приложената анестезия (обща или епидурална), но с различна степен на намаление в сравнение с други оперативни интервенции като мастектомия и чернодробна резекция (Cata JP и съавт., 2013; Ramirez MF и съавт., 2015).

Разнопосочните тенденции при изследването на различните популации и субпопулации на имунните клетки при отделните групи пациенти – без и с усложнения, показват сложността на имунната реактивност и необходимостта от допълнителни по-мощни проучвания за изясняване причините за динамичните отклонения от средните референтни стойности.

В нашето проучване предоперативното повишаване на имунокомпетентните CD3+ Т клетки и следоперативното понижаване на CD56+ NK клетките (абсолютен брой и процент), както и на CD 19+ В-лимфоцитите в абсолютен брой, се асоциира с висок риск от постоперативни възпалителни усложнения. С такъв риск се свързва и предоперативното повишаване на процента Т-супресорно/цитотоксични Т клетки (CD3+CD8+) и следоперативното увеличаване на индекса CD4/CD8, както и постоперативното понижаване на абсолютния брой на Т-хелперните клетки CD3+CD4+.

Допускаме, че за по-ниските предоперативни стойности на клетъчния имунитет при болните с рак на белия дроб значение има и възрастта на изследваните пациенти,

което допълнително влияе върху стареенето на имунната система, свързано с намаление на клетъчната активност. Стареенето на имунната система с понижаване на броя и активността на имунните клетки във възрастта след 60 години е рисков фактор за развитието на раковия процес. Значително понижен абсолютен брой на цитотоксични CD8⁺ Т клетки се доказва при пациенти с белодробни заболявания и рак на белия дроб в напреднала възраст в сравнение със здрави индивиди (*Gravekamp C и съавт., 2011*). Други автори установяват достоверно намаление на CD19⁺ В лимфоцитите и съотношението на CD4/CD8 клетките при болни с не-дребноклетъчен белодробен карцином спрямо здравите контроли (*Saavedra D и съавт., 2016*). Chen и съавт. съобщават за достоверно по-високи проценти на имунорегулаторните CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ и CD8⁺CD28⁻ Т клетки в периферната кръв на болни с не-дребноклетъчни белодробни карциноми, които се увеличават със стадия на тумора и намаляват в постоперативния период (*Chen C и съавт., 2014*).

Според Онуета и съавт. промените в субпопулациите на CD8⁺ Т лимфоцитите при болни с белодробен карцином са съпоставими с тези, наблюдавани при пациенти със старееща имунна система - по-висок дял на характерни за стареенето клетки с най-манифестни понижения при болни с напреднало заболяване в 4-ти стадий (*Онуета ОО и съавт. 2015*). В допълнение на това, при болните на химиотерапия авторите наблюдават тенденция за образуване на CD28⁺CD57⁺ клетки, също свързани със стареенето. Възможно е имунологичните промени при пациентите с белодробни карциноми да са свързани със стареенето на имунната система и да не се повлияват от химиотерапията.

Познанията върху потиснатия клетъчен имуен отговор при пациенти с белодробен рак могат да имат практическо приложение. Установено е, че у експериментални животни въвеждането на Th1 тип цитокини (IFN-gamma и TNF-alpha) инхибира туморния растеж и може да има потенциал при възстановяване на имунната анти-туморна реактивност на пациентите (*Braumüller H и съавт., 2013*). Съпътстващата туморния растеж анергия на Т-клетките се съчетава с промени, характерни за стареещата имунна система и експресия на секретирани от тумора „инхибиторни“ молекули като PD-1, Tim-3, LAG-3, 2B4, CD160, KLGR-1 (*Meloni F и съавт., 2006*). Обнадеждаващи са данните, че благодарение на персонализирана имуномодулираща терапия, таргетирана срещу PD-1, може да се повлияе туморния растеж при белодробен карцином.

Бъдещи проучвания върху други биохимични и имунологични показатели при пациенти с рак на белия дроб и белодробни резекции могат да допринесат за изясняване на ролята им в появата на РПОУ. Например нутритивният статус на пациента може да бъде оценен освен чрез серумния албумин, и чрез прилагането на антропометрични методи (измерване на промените в теглото) и изследване на трансферин. Определянето на CD8⁺CD28⁻ (CD8⁺CD57⁺) Т-клетките, свързани със стареенето, може да даде ценна информация за връзката на стареещата имунна система и имунологичните промени при белодробен рак.

ИЗВОДИ

1. Белодробните резекции, особено пулмонектомии и лобектомии по повод на първичен белодробен карцином, се извършват значително по-често при мъже в сравнение с жени. Преобладаването на мъжкия пол при направените торакотомии обаче се отличава от световната тенденция за намаляване на разликите в относителните дялове на двата пола при тези интервенции.
2. Установената средна възраст на болните с торакотомии за първичен белодробен карцином в нашето проучване (63 години) е по-ниска от съвременните тенденции за увеличаване на възрастта на болните, подложени на резекции за белодробни карциноми. Най-млади сред торакотомияните онко-пациенти у нас са тези с извършените пулмонектомии, а най-възрастни - със сегментектомии.
3. При изследваните пациенти се наблюдават различни възпалителни и невъзпалителни ранни постоперативни усложнения:
 - a. обемът на оперативната интервенция може да бъдат предиктор за по-високия риск от развитие на РПОУ след торакотомии – те се регистрират предимно при болни с пулмонектомии и лобектомии;
 - b. възрастта и полът също могат да прогнозира възникването на РПОУ при торакотомии - екзистиралите пациенти са най-възрастни, а тези с възпалителни усложнения – най-млади. Невъзпалителните ранни пост-оперативни усложнения са по-чести при мъже и само след лобектомии, а леталният изход е по-чест при жени.
4. При торакотомияните болни по повод белодробен рак настъпват някои характерни изменения в нивата на възпалителните маркери:
 - a. отчетлива е тенденцията на задълбочаващо се понижаване на албумина, предоперативното увеличаване на левкоцитите, както и ясно изразеното динамично повишаване на CRP и СУЕ;
 - b. при операбилните пациенти пониженото ниво на албумина, по-високите стойности на левкоцитите, значително повишените нива на СУЕ, и особено на CRP, се асоциират с висок риск от настъпване на възпалителни усложнения. Повишеният относителен дял на неутрофилите е предиктор за настъпване както на възпалителни, така и на невъзпалителни усложнения;
 - c. при иноперабилните болни тенденцията на възпалителните маркери се характеризира също с динамично понижаване на албумина, достигащо до под долна референтна граница, но по-слабо изразено повишаване на левкоцитите и неутрофилите, отколкото при операбилните пациенти, динамично повишаване на CRP и по-високи нива на прокалцитонин, отколкото при операбилните болни.
5. Торакотомията при пациенти с белодробен карцином предизвиква повишено ранно следоперативно увеличение на цитокините IL-1a, IL-8 и IL-10, които са сигнификантно по-високи в сравнение с пред-оперативните им серумни концентрации. Предоперативните, по-високи от средната референтна граница, серумни нива на про-инфламаторния цитокин IL-1a и IL-8, както и по-ниските

концентрации на анти-възпалителния IL-10, могат да бъдат надеждни предиктори за развитието на ранни постоперативни компликации, съответно екзитус леталис и възпалителни усложнения.

6. Определянето на серумните концентрации на VEGF-A в динамика с тенденция за повишаването им в следоперативния период има прогностична роля при пациенти с белодробен карцином за ранни пост-оперативни възпалителни усложнения при торакотомия. За разлика от VEGF-A серумното изследване на ICAM-1 молекулата не показва потенциал да прогнозира ранните след-хирургични усложнения и нейното значение остава противоречиво.
7. На фона на злокачествения процес и хирургичната интервенция при пациентите с белодробен карцином се констатира трайна тенденция на понижаване на средните нива на Ig M и Ig G в динамика, сравнени със средните им референтни граници. Пониските предоперативни средни нива на Ig M и Ig G могат да бъдат надеждни предиктори за настъпване на ранни постоперативни възпалителни усложнения.
8. На фона на онкологичното заболяване както предоперативно, така и следоперативно, е налице тенденция към понижаване на абсолютния среден брой на всички лимфоцитни популации – T, B и NK клетки, в сравнение със средните им референтни стойности. С висок риск от развитието на ранни постоперативни възпалителни усложнения и екзитус леталис се асоциира предоперативното повишаване на CD3+ T имунокомпетентните клетки и супресорно-цитотоксичните CD3+CD8+ над референтната средна граница; постоперативното увеличение на индекса CD4+/CD8+ и следоперативното понижаване на абсолютния брой и относителния дял на естествените клетки-убийци CD 56+, а също и на абсолютния брой на B лимфоцитите (CD 19+) и T хелперните CD3+ CD4+ клетки. От друга страна, по-високият процент на NK клетките предоперативно може да се приеме като индикатор за активността на онкологичното заболяване.
9. Изследването на имунологичната реактивност преди и след торакотомия по повод карцином на белия дроб може да насочи и към необходимостта от имуномодулираща терапия.

ПРИНОСИ

I. С оригинален характер:

1. За първи път в страната са проучени комплексно пациенти с торакотомии и ранни пост-оперативни усложнения до 7-я следоперативен ден в зависимост от възраст, пол и обем на извършената торакотомия. Посочена е ролята на напредналата възраст и женския пол като рискове за леталния изход на пациентите, както и пулмонектомията и лобектомията като оперативни интервенции с по-висок риск за развитие на РПОУ.
2. За първи път са изследвани пред- и пост-оперативно в комплекс възпалителни и имунологични маркери при болни с торакотомия и връзката им с ранните пост-оперативни усложнения.
3. На базата на изследваните показатели и получените резултати е предложен достъпен за клиничната практика модел от показатели за проследяване в динамика на риска от развитие на ранни следоперативни усложнения при торакотомии. Проучването им периоперативно има значение за подобряване на постоперативната преживяемост.

II. Обогастващи съществуващите познания по проблема:

1. Доказана е тенденцията за понижаване на албумина, предоперативното увеличение на левкоцитите и динамичното повишаване на CRP и СУЕ както при операбилните, така и при иноперабилните болни с белодробен карцином.
2. Допълнена е ролята на цитокините за развитие на РПОУ при торакотомии – повишените в сравнение с референтната средна стойност предоперативни серумни нива на проинфламаторния IL-1a и IL-8 и по-ниските на анти-възпалителния IL-10, както и увеличението в динамика на серумния VEGF-A могат да предскажат появата на РПОУ.
3. Потвърдено е значението на изследването на серумните имуноглобулини и имунните клетки при болни с торакотомии за белодробен карцином и факта, че хирургичната интервенция води до следоперативно понижаване на серумните IgG в сравнение със средните референтни нива. В допълнение са и доказаните средни по-ниски серумни концентрации на IgM, които също могат да бъдат предиктор за РПОУ и заедно с IgG насочват към необходимостта от имуностимулация в ранния следоперативен период. Получените данни за фенотипа на лимфоцитите обогатяват познанията за ролята им като рисков фактор при възникване на възпалителни РПОУ – особено предоперативно по-високи от средните нива на CD4+CD8+ супресорно-цитотоксичните Т лимфоцити и постоперативното повишение на индекса CD4+/CD8+, както и следоперативното понижение на хелперно-индусерните CD3+ CD4+ лимфоцити.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

А. Публикации:

1. **Л. Паунов**, К. Мурджев, Д. Григоров, Т. Попова, П. Гарджева, М. Ивановска, Ц. Митева-Катранджиева, Б. Тодоров, Н. Али, Сп. Начева, Р. Стефанов, М. Мурджева, А. Учиков. Постоперативни усложнения при белодробни карциноми. Доклади на 15 национален конгрес по хирургия с международно участие, 2016;2:159-168 (пълнотекстова публикация); ISBN 1314-297
2. **Л. Паунов**, Е. Йорданов, В. Узунова, К. Атлиев, **К. Мурджев**, А. Учиков. Торакотомии при пациенти с първичен белодробен карцином – възрастови, полови характеристики и обем на оперативните подходи. Съвременна медицинска наука, 2018 (1): 37-48 (реферирано списание с научно рецензиране – No 1963 <http://nacid.bg/bg/NRS/>)
3. **Л. Раунов**, М. Ivanovska, Т. Popova, В. Haq, А. Uchikov, М. Murdjeva. Prognostic role of serum vascular endothelial factor VEGF-A and intercellular adhesion molecule ICAM-1 for early postsurgical complications in patients after thoracotomy and lung cancer. Year book of Bulgarian Association for Clinical Immunology 2018 (12): 69-75 (реферирано списание с научно рецензиране – No 353 <http://nacid.bg/bg/NRS/>)
4. **Л. Паунов**, А. Баташки, Е. Йорданов, **К. Мурджев**, А. Учиков. Ранни постоперативни усложнения при пациенти с белодробни резекции за първичен белодробен карцином, подадена в сп. Съвременна медицинска наука – под печат (реферирано списание с научно рецензиране – No 1963 <http://nacid.bg/bg/NRS/>)

Б. Участия в научни форуми:

1. **Л. Раунов**, К. Mourdjev, D. Grigorov, Т. Miteva-Katrandzhieva, В. Todorov, N. Ali, А. Batashki, S. Nacheva, R. Stefanov, М. Murdjeva, А. Uchikov. Postsurgical complications in lung cancers. 15-ти национален конгрес по хирургия с международно участие 29.30-2.10-2016, Scripta Scientifica Medica vol 48, 2016, suppl. 1, p. 72 (abstr.)
2. А. Петрова, И. Иванов, **Л. Паунов**, А. Учиков, Т. Кантарджиев, М. Мурджева. Първи случай на VIM-продуциращ *P. putida* в България, изолиран в УМБАЛ “Св. Георги”-Пловдив. 15 конгрес на Българската асоциация на клиничните микробиолози с международно участие, 17-19 май 2017, София
3. **Л. Паунов**, Г. Карагианидис, Ив. Мурджев, Сп. Начева. Демографски характеристики на болни с резекции на белия дроб. Научна сесия на МУ-Пловдив „Наука и младост“ - 29-30.03.2018
4. **Л. Паунов**, Ив. Мурджев, Ст. Присадов, П. Учиков, Сп. Начева, А. Учиков, Г. Присадов. Ранни постоперативни усложнения при пациенти с торакотомии. Научна сесия на МУ-Пловдив „Наука и младост“ - 29-30.03.2018
5. **Л. Раунов**, М. Ivanovska, А. Uchikov, **М. Мурджева**. Prognostic role of serum VEGF and ICAM-1 concentrations for early post-surgical inflammatory complications in cancer patients with open lung resections. 5-ти Национален конгрес по имунология „Имунология за всички“ с международно участие, 26-28.10. 2018 г, Пловдив (3-та награда за най-добър постер)

В. Участие в научен проект

1. „Прогностични и диагностични маркери за постоперативни възпалителни усложнения на белия дроб и плевралната кухина след белодробни резекции“ - вътреуниверситетски проект No 03/2011, финансиран от МУ-Пловдив, с ръководител: проф. д-р Красимир Мурджев; продължителност – 3 год. (2011-2014).

БЛАГОДАРНОСТ

*„Никой не постига успех, без да признае помощта на другите.“
Алфред Норт Уайтхед*

Издавам сърдечни благодарности на:

Моя научен ръководител – проф. д-р Ангел Учиков, за значимите съвети, споделения опит и критичните бележки.

Членовете на научното жури за усилията да оценят дисертационния труд.

Всички лекари и медицински сестри от Втора хирургична клиника на УМБАЛ „Св. Георги“-Пловдив и Катедрата по специална хирургия при МФ на МУ-Пловдив за оказаното съдействие при съвместната работа с пациентите и документацията.

Клинична лаборатория при УМБАЛ „Св. Георги“-Пловдив с началник доц. д-р Таня Денева за помощта при извършване на лабораторните изследвания за някои маркери на възпалението.

Д-р Татяна Попова, д-р Петя Гарджева и д-р Мария Ивановска от Катедрата по микробиология и имунология и Научно-изследователския център по имунология при МУ-Пловдив за сътрудничеството при имунологичните изследвания.

Ръководството на МУ-Пловдив и Медицински факултет за институционалното насърчение.

Научен отдел и Центъра за компютърни комуникации за съветите при процедурите на докторската програма и техническото сътрудничество.

Д-р Емилия Караславова за помощта при статистическата обработка на данните.

Моите родители - за непрестанната подкрепа, търпение и вяра.

И не на последно място, искам да отбележа с признателност и поклон, че моят вуйчо – проф. д-р Красимир Мурджев, беше вдъхновител и инициатор на проекта ми за дисертационен труд и мой пример в клинично-научните изследвания.