

Особенности функционирования иммунной системы больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Пашов А.И., Цхай В.Б., Камзалакова Н.И., Платонова Л.Н.

Peculiarities of immune system functioning of patients with endometrium cancer depending on the tumor differentiation grade

Pashov A.I., Tskhai V.B., Kamzalakova N.I., Platonova L.N.

Красноярская краевая клиническая больница, г. Красноярск

Красноярский краевой центр клинической иммунологии, г. Красноярск

Красноярская государственная медицинская академия, г. Красноярск

© Пашов А.И., Цхай В.Б., Камзалакова Н.И., Платонова Л.Н.

Цель исследования — определить особенности функционирования иммунной системы больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли. Обследованы 133 пациентки сопоставимого возраста в постменопаузе: здоровые женщины, больные с гистологически верифицированной высоко-, умеренно- (1-я группа) и низкодифференцированной (2-я группа) аденокарциномой эндометрия I стадии. Оценка иммунного статуса проводилась в соответствии с общепринятыми рекомендациями. В 1-й группе установлена активация иммунной системы, во 2-й — зафиксировано разобщение работы основных звеньев иммунной системы и снижение их функциональных возможностей.

Ключевые слова: рак эндометрия, дифференцировка опухоли, иммунный статус, корреляционный анализ.

The aim of investigation is to define the peculiarities of immune system functioning of patients with endometrium cancer depending on the tumor differentiation grade. 133 female patients of comparable age in menopause have been examined: healthy women, patients with histological verified high-, medium- (1-st group) and low-differentiated (2-nd group) endometrium adenocarcinoma of the I stage. Estimation of the immune state has been made in accordance with generally accepted recommendations. Immune system activation has been stated in the 1-st group, in the 2-nd group there has been marked a dissociation of the function of basic immune system chains and a decrease of their functional abilities.

Key words: endometrium cancer, tumor differentiation, immune state, correlation analysis.

УДК 618.14-006.6:612.017.1

Введение

Рак тела матки (РТМ), занимая 1—3-е место среди всех злокачественных новообразований гениталий у женщин [1, 4, 5], является актуальной проблемой современной онкогинекологии. Формирование и прогрессирование злокачественного процесса любой локализации, в том числе РТМ, связа-

ны с ослаблением противоопухолевого иммунитета и нарушением регуляции пролиферативных процессов [2].

Цель настоящего исследования — оценка функционирования иммунной системы больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли.

Материал и методы

Исследованы 63 женщины с гистологически верифицированной высоко- и умеренно дифференцированной аденокарциномой эндометрия I стадии — 1-я группа (средний возраст — $59,89 \pm 1,02$ года). Во 2-ю группу вошли 23 женщины с гистологически верифицированной низко дифференцированной аденокарциномой эндометрия I стадии (средний возраст — $60,35 \pm 1,62$ года). Женщины (47 человек), которым кюретаж проводился по поводу кровотечений в менопаузе (эндометрий соответствовал стадии атрофии), составили контрольную группу (средний возраст — $59,70 \pm 0,86$ года). Все обследованные женщины находились в постменопаузе длительностью от 5 до 10 лет.

Оценка иммунного статуса здоровых женщин и больных РТМ проводилась в соответствии с общепринятыми рекомендациями [6, 7]. Кровь для исследования забиралась с 8 до 10 ч утра с учетом циркадных суточных ритмов показателей иммунитета [8, 10]. Экспрессия поверхностных клеточных антигенов CD3

(Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-цитотоксические/супрессоры), CD19 (В-лимфоциты) оценивалась методом непрямой флуоресценции с мышиными моноклональными антителами (ЗАО «Сорбент») на люминесцентном микроскопе «Люмам И-1». Оценка функционального состояния гуморального звена иммунной системы производилась по определению концентрации сывороточных иммуноглобулинов А, М, G (IgA, IgM, IgG) [11] и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [12]. Функциональное состояние системы фагоцитоза оценивалось методом хемилюминесценции гранулоцитов крови [9]. В качестве индуктора дыхательного «взрыва» использовался опсонизированный зимозан. Из параметров хемилюминесценции учитывались следующие: площади кривых спонтанной (S-sp) и индуцированной (S-st) хемилюминесценции, время выхода на пик кривой индуцированной хемилюминесценции (ХЛ-t), индекс стимуляции (ИСТ) — соотношение S-st/S-sp. Фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) устанавливались методом определения фагоцитарной актив-

ности нейтрофилов с использованием частиц латекса.

Достоверность различий полученных результатов оценивалась по *t*-критерию Стьюдента (для рядов с нормальным распределением) и дополнительно непараметрическими методами по критерию Вилкоксона и Ван дер Вардена (для рядов с распределением, отличным от нормального).

Оценка взаимозависимостей параметров иммунного статуса больных РТМ, обусловленных степенью дифференцировки опухолей эндометрия, проводилась с помощью корреляционного анализа. Учитывались только достоверные ($p < 0,05$) связи — при превышении вычисленного коэффициента корреляции его критического уровня для данного объема выборки: в контроле — 0,29 ($n = 47$), в 1-й группе — 0,25 ($n = 63$), во 2-й группе — 0,41 ($n = 23$).

Результаты и обсуждение

Клинико-лабораторные показатели больных раком эндометрия и 1-й (высокая и умеренная степень дифференцировки опухоли), и 2-й группы (низкая дифференцировка) отличались по сравнению с параметрами

контроля (табл. 1) прежде всего повышением СОЭ, увеличением процента молодых форм гранулоцитов и снижением эозинофилов. В периферической крови обследованных женщин наблюдалось также достоверное снижение количества циркулирующих эритроцитов, кроме того, у больных с низко дифференцированной опухолью отмечалось уменьшение уровня гемоглобина.

Необходимо отметить, что при одностороннем изменении большинства параметров периферической крови имелись и некоторые различия, зависящие от степени дифференцировки опухоли. Так, у женщин 1-й группы при сохранении нормального количества лейкоцитов отмечалось достоверное увеличение относительного содержания лимфоцитов и снижение предшественников тканевых макрофагов — моноцитов.

Таблица 1

Показатели клинического анализа крови больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли ($M \pm m$)

Показатели	Группа		
	Контрольная ($n = 47$)	1-я ($n = 63$)	2-я ($n = 23$)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$5687,23 \pm 108,99$	$5430,16 \pm 154,9$	$8443,48 \pm 540,09^{* \#}$
Гемоглобин, г/л	$126,47 \pm 1,08$	$126,76 \pm 1,31$	$109,78 \pm 3,01^{* \#}$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$4,29 \pm 0,07$	$3,99 \pm 0,06^*$	$3,41 \pm 0,10^{* \#}$
СОЭ, мм/ч	$11,89 \pm 0,50$	$26,02 \pm 0,97^*$	$39,78 \pm 2,45^{* \#}$
П/я нейтрофилы, %	$2,06 \pm 0,15$	$3,68 \pm 0,23^*$	$5,96 \pm 0,47^{* \#}$
С/я нейтрофилы, %	$61,91 \pm 0,80$	$58,17 \pm 1,09^*$	$69,35 \pm 1,44^{* \#}$
Эозинофилы, %	$2,49 \pm 0,17$	$1,05 \pm 0,12^*$	$0,52 \pm 0,13^{* \#}$
Моноциты, %	$4,51 \pm 0,24$	$3,84 \pm 0,20^*$	$5,35 \pm 0,42^{* \#}$
Лимфоциты, %	$29,02 \pm 0,75$	$33,25 \pm 1,06^*$	$18,83 \pm 1,30^{* \#}$
Возраст, лет	$59,70 \pm 0,86$	$59,89 \pm 1,02$	$60,35 \pm 1,62$

* $p < 0,05$ в сравнении со здоровыми лицами.

Достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

Во 2-й группе, напротив, на фоне лейкоцитоза наблюдалось уменьшение процента лимфоцитов более чем в 1,5 раза. Содержание моноцитов у этих больных было достоверно больше, чем у пациенток с высокодифференцированной опухолью.

Таким образом, полученные при исследовании параметры периферической крови свидетельствовали, во-первых, о развитии и нарастании тяжести раковой интоксикации параллельно уменьшению степени дифференцировки. Во-вторых, о более выраженной активации неспецифических факторов защиты при втором патогенетическом варианте развития патологического процесса, что, вероятно, являлось компенсаторной реакцией на подавление специфического ответа, развивающейся при высокой интоксикации.

Параметры иммунного статуса больных 1-й группы отличались от показателей контрольной группы (табл. 2) увеличением CD3-клеток и соотношения CD3/CD4 за счет разнонаправленного перераспределения объемов регуляторных субпопуляций — Т-хелперов и Т-цитоток-

сических/супрессорных лимфоцитов. Это, вероятно, связано с высоким эстрогеновым фоном при первом патогенетическом варианте развития РТМ, а эстрогены, как известно, стимулируют пролиферацию и дифференцировку CD4-клеток.

Наблюдалась также дисгаммаглобулинемия за счет достоверного снижения уровней IgM и IgG. Такое перераспределение выработки основных классов иммуноглобулинов можно расценить как компенсаторную реакцию иммунной системы, направленную при поражении эндометрия на повышение активности местных факторов защиты.

У пациенток с низкодифференцированными аденокарциномами эндометрия, несмотря на более интенсивный по сравнению как с контролем, так и с 1-й группой больных выброс Т-лимфоцитов в периферическую кровь, дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций усугублялся. Это происходило за счет уменьшения содержания CD4- и достоверного роста CD8-клеток. Вероятно, перераспределение в сторону усиления пролиферации и дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов связано с «попыткой» стимуляции противоопухолевого иммунитета.

Таблица 2

Параметры иммунного статуса больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли ($M \pm m$)

Показатель	Группа		
	Контрольная ($n = 47$)	1-я ($n = 63$)	2-я ($n = 23$)
Лейкоциты /мкл	$5687,23 \pm 108,99$	$5430,16 \pm 154,86$	$8443,48 \pm 540,09^{* \#}$
Лимфоциты, %	$29,02 \pm 0,75$	$33,25 \pm 1,06^*$	$18,83 \pm 1,30^{* \#}$
Лимфоциты/мкл	$1631,81 \pm 38,40$	$1767,54 \pm 61,20$	$1482,61 \pm 70,20^{\#}$
CD3, %	$54,70 \pm 1,01$	$56,98 \pm 1,00$	$67,48 \pm 1,44^{* \#}$
CD3/мкл	$889,98 \pm 24,10$	$996,57 \pm 33,80^*$	$1004,54 \pm 57,90$
CD4, %	$33,89 \pm 0,68$	$34,71 \pm 0,76$	$26,17 \pm 1,39^{* \#}$

CD8, %	28,49 ± 0,59	26,95 ± 0,62	37,17 ± 1,51 ^{*#}
CD3/CD4	1,21 ± 0,03	1,31 ± 0,03 [*]	0,72 ± 0,04 ^{*#}
CD19, %	12,49 ± 0,32	12,37 ± 0,31	14,91 ± 0,53 ^{*#}
CD19 /мкл	203,14 ± 6,42	214,61 ± 7,63	217,14 ± 8,98
IgA, г/л	3,21 ± 0,10	3,51 ± 0,12	3,25 ± 0,21
IgM, г/л	1,07 ± 0,05	0,91 ± 0,03 [*]	0,87 ± 0,04 [*]
IgG, г/л	13,66 ± 0,20	11,70 ± 0,31 [*]	14,26 ± 0,44 [#]
ЦИК, усл. ед.	50,15 ± 2,20	51,30 ± 3,71	73,09 ± 4,74 ^{*#}
ФИ, %	58,38 ± 1,34	55,40 ± 1,11	41,65 ± 1,31 ^{*#}
ФЧ	5,74 ± 0,21	4,85 ± 0,15 [*]	3,67 ± 0,30 ^{*#}
ХЛ-t, мин	26,02 ± 0,50	29,24 ± 0,37 [*]	32,22 ± 0,96 ^{*#}
S-sp	4484,47 ± 353,07	27988,84 ± 2143,10 [*]	41182,48 ± 3822,70 ^{*#}
S-st	33881,77 ± 2315,8	64228,46 ± 4137,60 [*]	56130,30 ± 4756,10 [*]
ИСТ	7,96 ± 0,23	2,82 ± 0,18 [*]	1,44 ± 0,10 ^{*#}

Примечание. Показатели, характеризующие активность фагоцитарного звена: S-sp и S-st — площади кривых спонтанной и индуцированной хемилюминесценции; ХЛ-t — время выхода на пик кривой индуцированной хемилюминесценции; ИСТ — индекс стимуляции (соотношение S-st/S-sp); ФИ — фагоцитарный индекс; ФЧ — фагоцитарное число.

* $p < 0,05$ в сравнении со здоровыми лицами.

Достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

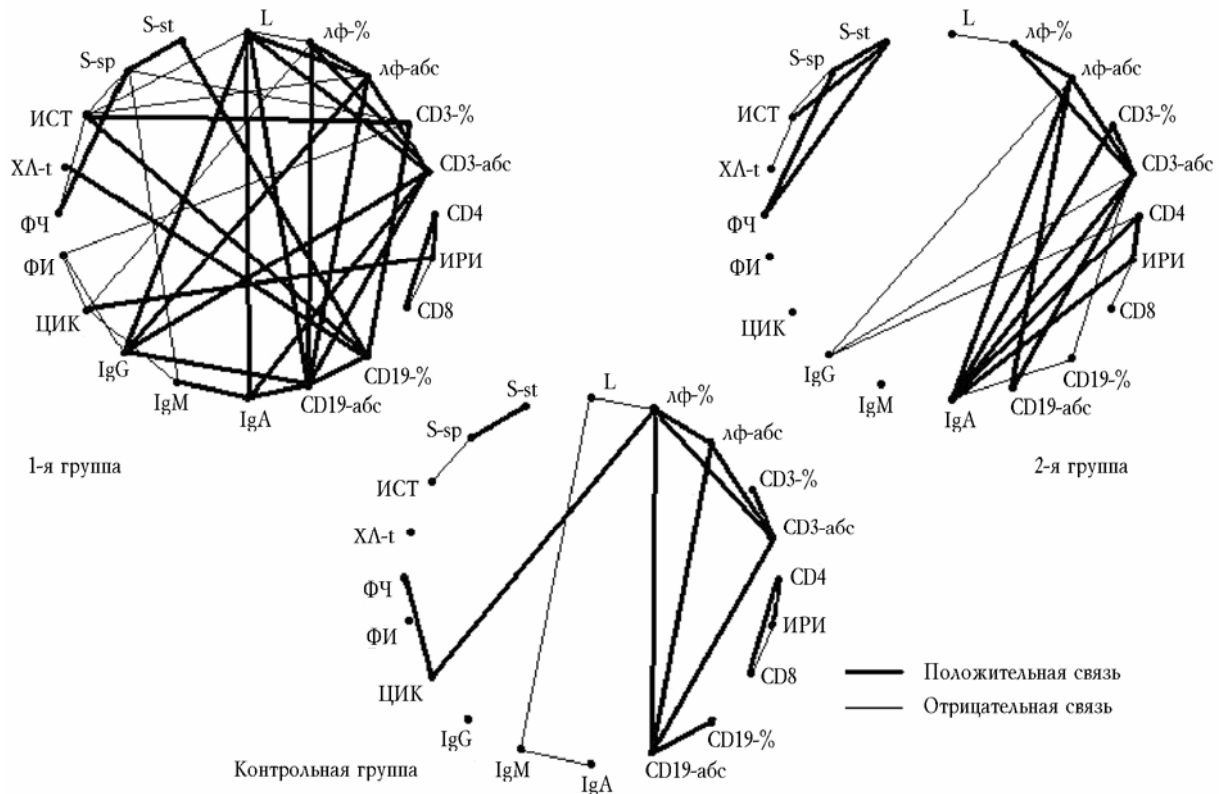
Более высоким, чем у здоровых женщин и пациенток 1-й группы, было относительное содержание CD19-клеток. Выше по отношению к сравниваемой группе больных определялась и концентрация IgG, обусловленная, по-видимому, более выраженной антигенной стимуляцией иммунной системы низкодифференцированной опухолью в силу ее большей злокачественности.

Обращало на себя внимание постепенное уменьшение фагоцитарного индекса у женщин с РТМ, параллельное снижению степени дифференцировки опухоли (табл. 2). Те же изменения происходили и с показателем фагоцитарного числа, что в совокупности характеризовало низкую способность фагоцитов больных к поглощению антигена.

У пациенток обеих групп по сравнению с контролем наблюдалось увеличение площади спонтанной хемилюминесценции, более выраженное при низкой дифференцировке опухоли, отражав-

шее достаточно высокий уровень метаболических процессов, протекающих в фагоцитах. Однако следует отметить, что индекс стимуляции, характеризующий ответ клеток на дополнительное антигенное раздражение, снижался в обеих группах, несмотря на достоверное увеличение площади индуцированной хемилюминесценции. При этом у пациенток 2-й группы ИСТ был почти в 2 раза ниже, чем в 1-й, что свидетельствовало не только об уменьшении резервных метаболических возможностей фагоцитов, но и о высокой вероятности их истощения при низкодифференцированных опухолях. Это подтверждалось и большим увеличением у них времени выхода на пик кривой индуцированной хемилюминесценции.

Корреляционным анализом установлены существенные различия взаимозависимостей параметров иммунного статуса практически здоровых женщин и больных аденокарциномами эндометрия (см. рисунок).



Корреляционные взаимозависимости параметров иммунного статуса здоровых женщин (контроль) и больных раком эндометрия при высокой, умеренной (1-я группа) и низкой (2-я группа) степени дифференцировки опухоли: L — количество лейкоцитов в мкл; лф-% — процент лимфоцитов в формуле крови; лф-абс, CD3-абс, CD19-абс — абсолютное количество соответствующих лимфоцитов; ИРИ — соотношение CD4/CD8; CD4 и CD8 — процент клеток соответствующих субпопуляций; S-sp и S-st — площади кривых спонтанной и индуцированной хемилюминесценции соответственно; ХЛ-t — время выхода на пик кривой индуцированной хемилюминесценции; ИСТ — индекс стимуляции (соотношение S-st/S-sp); ФИ — фагоцитарный индекс; ФЧ — фагоцитарное число

Из связей, выявленных в контрольной группе, среди показателей Т-звена иммунной системы были вполне объяснимы полученные прямые корреляции между относительным и абсолютным содержанием лимфоцитов, количеством этих клеток и показателями CD3- и CD19-лимфоцитов, а также обратная связь между абсолютными значениями CD3 и CD19. Логичной представлялась прямая связь иммунорегуляторного индекса с CD4- и отрицательная — с CD8-популяцией

Т-лимфоцитов, что объяснялось их функциональным предназначением.

Наличие отрицательной зависимости между количеством лейкоцитов и концентрацией IgM отражало, вероятно, способность быстрого реагирования системы либо за счет неспецифиче-

ских факторов защиты, либо выработкой менее специфичного, но эволюционно самого старого и легко производимого иммуноглобулина. Обратная корреляция IgM — IgA характеризовала при этом и возможность выбора синтеза более оптимального класса антител.

Высокие резервные метаболические возможности фагоцитов, проявляющиеся в способности ответа на дополнительную антигенную стимуляцию, отражали обратная ИСТ — S-sp и прямая S-sp — S-st связи.

Из взаимозависимостей между показателями гуморального и фагоцитарного звеньев иммунной системы следует отметить положительную связь ЦИК — ФЧ, которая свидетельствовала об увеличении поглотительной функции фагоцитов при росте уровня циркулирующих иммунных комплек-

сов, характеризуя сбалансированность работы иммунной системы здоровых женщин в целом.

Первое, что отмечалось при анализе корреляционных связей между параметрами иммунного статуса больных 1-й группы, это значительное увеличение их числа — более чем в 2 раза при сохранении преобладающего количества среди них положительных взаимозависимостей. Столь резкое увеличение числа последних свидетельствовало о нарастании функциональной напряженности иммунной системы [3] при ее специфическом реагировании на опухоль.

Следующее обстоятельство, которое обращало на себя внимание при анализе результатов, — появление новых, кроме характерных для здоровых женщин, корреляций между параметрами. Так, более жесткой, чем в контроле, отмечалась взаимозависимость среди показателей всех звеньев иммунитета: клеточного, гуморального и фагоцитарного. Кроме того, определялись новые и принципиально важные корреляционные связи, отражающие тесное взаимодействие звеньев иммунной системы в процессе иммунного противоопухолевого ответа при высоко- и среднелифференцированном раке эндометрия.

Основное, что отмечалось при оценке взаимоотношений иммунологических параметров в группе пациенток с низкодифференцированной аденокарциномой (2-я группа), это отсутствие каких-либо корреляций между показателями клеточного и гуморального звеньев иммунитета с параметрами, характеризовавшими функциональную активность фагоцитов. В то же время внутрисистемные корреляции фагоцитарного звена составляли практически четверть от всех имеющихся зависимостей и отражали наличие высокой функциональной нагрузки на него. Однако уровень показателей этого звена (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, время выхода на пик кривой индуцированной ХЛ, индекс стимуляции) не позволяли сделать заключение о его высоких возможностях.

Заключение

При наличии высоко- и среднелифференцированного рака эндометрия отмечалась актива-

ция иммунной системы. Это проявлялось как в соответствующих изменениях уровней изученных параметров, так и в возрастании функциональной нагрузки на систему, что подтверждалось резким увеличением корреляционных взаимозависимостей и изменением их характера.

У пациенток с низкодифференцированными опухолями зафиксировано разобщение работы основных звеньев иммунной системы и снижение их функциональных возможностей. Последнее обстоятельство было наиболее характерно для фагоцитарного звена, что наряду с его «обособленностью» и учетом его роли в противоопухолевом иммунитете отрицательно сказывалось на формировании последнего.

Литература

1. *Ашрафян Л.А.* Стандартизованная диагностика рака эндометрия: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1989. 40 с.
2. *Бохман Я.В.* Руководство по онкогинекологии. Л.: Медицина, 1989. С. 275—340.
3. *Булгун Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В.* Метаболические основы регуляции иммунного ответа. Новосибирск: СО РАМН, 1999. 346 с.
4. *Табакман Ю.Ю.* Предрак и рак эндометрия: алгоритм диагностики и тактика ведения: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2000. 46 с.
5. *Ульрих Е.А.* Клинико-морфологические особенности серозно-папиллярного рака эндометрия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2002. 24 с.
6. *Хаитов Р.М., Игнатъев Г.А., Сидорович И.Г.* Иммунология. М.: Медицина, 2000. 432 с.
7. *Ширинский В.С.* Надежность иммунной системы и проблема вторичных иммунодефицитов // Вестн. АМН СССР. 1991. № 12. С. 43—45.
8. *Miyawaki T., Taga K., Nagaoki T. et al.* Circadian changes of T-lymphocyte subsets in human peripheral blood // Clin. Exp. Immunol. 1984. V. 55. № 3. P. 618—622.
9. *De Soli P., Lippa S., Lixxaru G.* Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to assess oxygen-dependent microbial activity of granulocytes // J. Clin. Lab. Autom. 1983. V. 3. P. 391—400.
10. *Garraud O., Moreau T.R.* Effect of blood storage on lymphocyte subpopulations // J. Immunol. Methods. 1984. V. 75. № 1. P. 95—98.
11. *Manchini G., Carbonaro A.O., Haremans J.F.* Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion // Immunochemistry. 1965. V. 2. № 3. P. 235—255.
12. *Haskova V., Kaslik J., Richa J. et al.* Simple method of circulating immune complex // Z. Immun. Forsch. 1978. Bd. 154. S. 399—406.

Экспериментальные и клинические исследования

Поступила в редакцию 06.06.2004 г.