

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА

УДК 571.27:616-006.6(618.11)

ОПУХОЛЕВОАССОЦИИРОВАННАЯ ИММУНОПАТОЛОГИЯ ПРИ РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ*

Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, Т.В. Абакумова,
О.С. Воронова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг

Ульяновский государственный университет

У больных раком яичников на III–IV стадиях заболевания оценивали субпопуляционный состав, спонтанный и индуцированный апоптоз лимфоцитов, фагоцитарную активность, цитотоксичность и рецепторный статус нейтрофилов периферической крови, уровень провоспалительных цитокинов. Установлено существенное изменение иммунного статуса у больных раком яичников на III–IV стадиях заболевания. При возрастании общего количества нейтрофилов периферической крови снижается их способность к завершеному фагоцитозу. На фоне снижения общего количества лимфоцитов, относительного количества Т-лимфоцитов (CD3+) и их субпопуляции (CD4+) имеет место возрастание уровня экспрессии активационных маркеров (CD25+, CD71+, CD95+) лимфоцитов и HLA-DR+. Также у больных раком яичников установлена повышенная чувствительность лимфоцитов к апоптозу. Показано значимое увеличение в сыворотке крови уровня IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α и IFN- γ . Полученные данные характеризуют опухолевоассоциированный вторичный иммунодефицит при распространенных формах рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников, лимфоциты, НК-клетки, нейтрофилы, цитокины, вторичный иммунодефицит.

Введение. Для рака яичников (РЯ) характерна многостадийность, определяемая взаимодействием ряда патофизиологических механизмов и определенной картиной иммунопатологии [6]. Онкогинекологу приходится сталкиваться с феноменом ассоциированного с РЯ вторичного иммунодефицита (ВИД). В формировании ВИД существенное значение имеют факторы, обладающие эффекторными и регуляторными функциями в отношении противоопухолевого иммунитета. И их количественное соотношение у больных на различных стадиях РЯ может не только играть патогенетическую роль, но и иметь определенное клиническое значение при разработке

терапевтических и реабилитационных мероприятий.

Цель исследования. Изучение параметров специфического и неспецифического иммунитета у больных при распространенных формах РЯ.

Материалы и методы. Из образцов крови 119 первичных больных РЯ (III–IV клинические стадии по FIGO), полученных при первичном обследовании больных до начала терапии, и 81 практически соматически здоровой женщины со Станции переливания крови (группа контроля) получали лимфоциты на градиенте плотности фиколл-верографина (1,077 г/мл). Субпопуляционный состав лимфоцитов (Лф) исследовали с использованием моноклональных антител к молекулам CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, CD71, CD95 и HLA-DR (Институт иммунологии Минсоцразвития России, фирма «Сорбент») методом

* Работа поддержана грантом ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. и государственным заданием Минобрнауки России.

непрямой иммунофлуоресценции. Проводили положительный и отрицательный контроль. В положительном контроле почти все клетки экспрессировали общелейкоцитарный маркер CD45. Оценивали флуоресценцию не менее 200 клеток. Контроль неспецифического связывания меченой сыворотки составлял не более 3 %. Для оценки спонтанного и индуцированного апоптоза лимфоцитов клетки выделяли центрифугированием в градиенте плотности перколла (Pharmla) с предварительным осаждением эритроцитов 4,5 % раствором декстрана Т-500 (LobaChemie). Клетки, выделенные с интерфазы 1,007, культивировали в 24-луночных пластиковых планшетах (Costar) в среде RPMJ-1640 (Flow) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 200 мкг/мл L-глутамин (Ligma), 100 мкг/мл гентамицина, интерлейкина-2 (2074/ml) (Sigma) при 37 °С в CO₂-инкубаторе (5 % CO₂) (Joan) в течение 1–8 сут. Клетки инкубировали с дексаметазоном (Дн) (Sigma) (10⁻⁶ М), фитогемагглютинином (ФГА) (Serva), моноклональными антителами к Fas-рецептору (PharMingen) и анти-Fas-АТ (1 мкг/мл) (Ortho). Оценку апоптоза лимфоцитов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии на приборе Facscan (Becton Dickinson) по следующим параметрам:

- 1) процент клеток, обнаруживаемых в гиподиплоидной зоне гистограммы, где локализуются клетки, подвергшиеся апоптозу;

- 2) изменение величины митохондриального потенциала ($\Delta\psi$);
- 3) экспрессия фосфатидилсерина (ФС);
- 4) уровень экспрессии Fas-рецептора (CD95).

В нейтрофилах (Нф) периферической крови методом иммуноферментного анализа (МКА «Сорбент», г. Москва) оценивали экспрессию CD11a, CD11b, CD15 и CD95. Цитохимически в Нф определяли уровень миелопероксидазы (МПО), содержание катионных белков (КБ), активность в НСТ-тесте и фагоцитарную активность. Концентрацию TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа.

Статистическую обработку данных проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни и коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. В результате выполненных исследований установлено, что общее количество Лф у больных РЯ на III–IV клинических стадиях заболевания достоверно не отличается от такового у здоровых людей. При этом имеет место значимое снижение количества Лф. При анализе экспрессии поверхностных маркеров Лф отмечается снижение количества Т-Лф (CD3+) и их субпопуляции (CD4+) при одновременном увеличении CD8-клеток у больных РЯ по сравнению с контрольной группой. Существенно возростала и экспрессия CD16+ (табл. 1).

Таблица 1

Количество клеток, несущих дифференцировочные маркеры на лимфоцитах периферической крови больных РЯ

	Всего Лф, $\times 10^9$ /л	CD3+, $\times 10^9$ /л	CD4+, $\times 10^9$ /л	CD8+, $\times 10^9$ /л	CD16+, $\times 10^9$ /л
Доноры (n=63)	2,73 \pm 0,01	1,75 \pm 0,02	1,10 \pm 0,02	0,43 \pm 0,03	0,44 \pm 0,03
	Lei=(6,9 \pm 0,030) $\times 10^9$ /л				
Больные РЯ III стадии (n=40)	2,01 \pm 0,02*	1,13 \pm 0,02*	0,59 \pm 0,01*	0,48 \pm 0,03*	0,46 \pm 0,02
	Lei=(6,15 \pm 0,04) $\times 10^9$ /л				
Больные РЯ IV стадии (n=14)	2,07 \pm 0,06*	1,09 \pm 0,01*	0,62 \pm 0,02*	0,48 \pm 0,03*	0,40 \pm 0,02
	Lei=(7,10 \pm 0,06) $\times 10^9$ /л				

Примечание. * – данные, достоверно отличающиеся от контрольных.

Данные литературы относительно фенотипа Лф при злокачественных опухолях яичников достаточно противоречивы. Авторы в большинстве своем указывают на лимфоцитопению и снижение CD3+ и CD4+, и не существует единого мнения относительно изменения количества клеток CD8+ и CD16+, хотя количество Лф с этими дифференциро-

вочными маркерами в существенной мере будет определять выбор иммунотерапии на различных стадиях опухолевого процесса.

Количество Лф с CD25+, а также с CD71+ и CD95+ у больных РЯ на III–IV клинических стадиях заболевания было существенно и достоверно выше, чем в группе контроля (рис. 1).

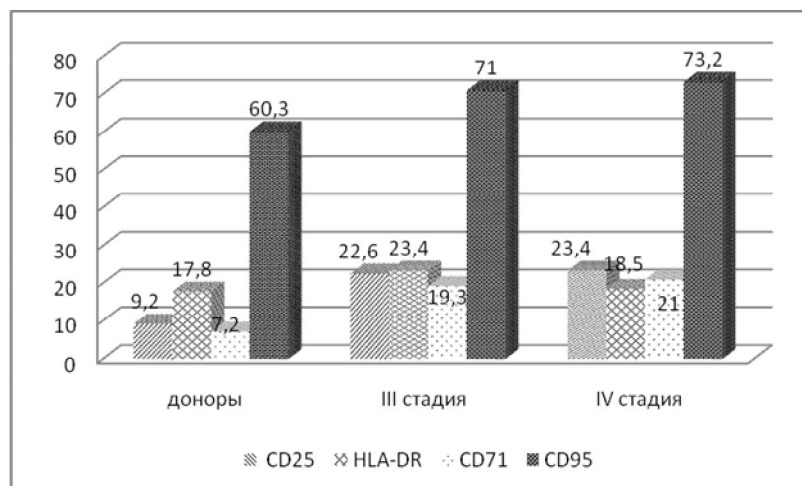


Рис. 1. Динамика изменения количества Лф, несущих активационные маркеры, у больных РЯ, %

В то же время количество Лф, несущих HLA-DR-маркеры, у больных РЯ характеризовалось волнообразными изменениями: существенно и достоверно возросло на III клинической стадии, с тем чтобы на IV стадии снизиться практически до показателей контрольной группы.

В литературе описана подобная динамика у целого ряда больных со злокачественными опухолями различной локализации [6]. Известно, что в норме HLA-DR экспрессируются на поверхности В-Лф и на активированных Т-Лф. Таким образом, увеличение количества HLA-DR-клеток у больных РЯ может быть связано как с увеличением количества В-клеток, что не подтверждается данными литературы, так и с активацией Т-Лф, что, по мнению ряда авторов [6], может быть связано с активным метастазированием на III клинической стадии заболевания.

С процессами развития и роста опухоли может быть связано и увеличение количества клеток CD25+. Подобная динамика описана также у больных раком желудка [12]. Существует мнение, что у онкологических боль-

ных увеличена субпопуляция Т-регуляторных клеток с фенотипом CD4+ и CD25+. Количество этих клеток-супрессоров, подавляющих пролиферацию клеток CD4+ и CD25-, возрастает по мере прогрессирования опухоли [11].

Увеличение количества Лф с CD71+ в периферической крови больных РЯ может свидетельствовать об активной пролиферации этих клеток иммунной системы. В ходе исследования выявлено возрастание количества CD71+-клеток в процессе опухолевого роста, и это согласуется с данными литературы [13].

Опухолевая прогрессия, связанная с возникновением и отбором наиболее злокачественных клонов, определяется как биологическими свойствами опухолевых клеток, так и различными факторами организма. Существует мнение, что ускользание опухоли от иммунного надзора происходит в т.ч. и потому, что опухолевая клетка приобретает способность индуцировать апоптоз в цитотоксических Лф [4].

Результаты оценки спонтанного и индуцированного апоптоза представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Спонтанный и индуцированный апоптоз лимфоцитов больных РЯ
на III–IV клинических стадиях заболевания, % клеток**

Серия	Группа	72 ч			144 ч			192 ч		
		$\Delta\psi$	ФС	ДНК	$\Delta\psi$	ФС	ДНК	$\Delta\psi$	ФС	ДНК
Больные РЯ III стадии (n=16)	Контр.	18,0±1,7*	10,8±1,1*	2,3±0,9*	34,6±3,0*	28,6±2,1*	5,1±0,6*	45,0±3,9*	33,3±3,3*	17,9±1,8*
	ФГА	21,3±1,9*	28,6±2,0*	6,1±0,8*	41,3±3,7*	39,0±3,0*	17,3±1,7*	52,6±4,2*	40,5±3,8*	20,5±2,0*
	Дн	19,6±1,4*	11,8±1,2*	1,9±0,2*	39,1±3,4*	32,0±2,8*	8,6±1,1*	48,1±4,1*	23,9±2,2	21,0±1,7*
	Fas-AT	23,7±2,1*	17,3±1,4*	4,5±0,3*	36,5±3,1*	32,8±2,9*	10,3±1,1*	50,4±4,1*	25,1±2,3*	21,1±2,1*
Больные РЯ IV стадии (n=14)	Контр.	19,0±2,0*	12,3±1,1*	3,2±0,5*	37,3±3,6*	31,1±3,0*	8,1±0,9*	50,0±4,2*	41,9±4,0*	20,3±2,1*
	ФГА	28,0±2,2*	31,0±2,1*	6,3±1,0*	52,8±4,1*	45,3±3,7*	18,4±1,7*	56,3±4,4*	52,6±4,2*	25,8±2,3*
	Дн	20,9±1,9*	15,0±1,6*	2,7±0,4*	46,2±3,8*	37,2±2,9*	9,9±0,8*	52,1±4,6*	30,3±3,3*	22,5±2,0*
	Fas-AT	24,2±2,1*	20,3±2,1*	4,9±0,6*	44,6±3,8*	40,1±3,9*	11,9±1,0*	57,1±4,6*	48,9±4,2*	26,3±1,9*
Доноры (n=7)	Контр.	9,1±1,9	6,8±0,6	-	13,2±1,1	9,6±1,0	3,6±0,4	22,8±2,1	19,5±1,9	10,4±1,2
	ФГА	11,7±1,2	7,2±1,3	2,2±0,6	16,6±1,2	11,2±1,2	5,1±0,7	28,4±2,7	26,0±2,1	11,4±1,1
	Дн	8,7±0,8	6,2±1,3	-	19,7±1,2	16,4±1,4	8,2±0,6	37,0±3,0	31,6±1,4	10,9±0,7
	Fas-AT	10,7±1,1	7,4±0,7	-	11,4±2,0	13,6±1,1	-	24,1±2,9	18,2±1,1	12,6±1,1

Примечание. * – показатели, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в группе доноров.

Было установлено, что у Лф доноров снижение величины $\Delta\psi$ и появление ФС на поверхности клеток происходит в первую очередь и практически одновременно. Упорядоченная фрагментация ДНК начинается несколько позже. Снижение $\Delta\psi$ и уровня экспрессии ФС на поверхности Лф больных РЯ в указанные сроки инкубации было достоверно более выражено по сравнению с Лф доноров и увеличивалось при прогрессировании опухоли. Процесс упорядоченной фрагментации ДНК в этих Лф начинался раньше, чем в Лф доноров, усиливался в процессе опухолевой прогрессии и у больных с IV клинической стадией заболевания более чем в 3 раза превышал показатели для Лф доноров (табл. 2).

Инкубация с Дн индуцировала в Лф вышеперечисленные изменения. Однако их динамика и степень выраженности в Лф доноров и в Лф больных РЯ были различными. Было установлено, что снижение $\Delta\psi$ при инкубации с Дн в Лф больных РЯ было существенно и достоверно более выражено, нежели в Лф здоровых женщин, и нарастало в динамике опухолевой прогрессии (табл. 2).

Выявленная обратная зависимость между падением $\Delta\psi$, как спонтанным, так и Дн-индуцированным, и появлением молекул ФС на поверхности Лф свидетельствует в пользу высказанной ранее гипотезы [3], согласно которой экспрессия ФС на поверхности Лф происходит только при снижении $\Delta\psi$ (табл. 2).

Дн также индуцирует фрагментацию ДНК Лф больных РЯ после 72 ч инкубации. В Лф доноров этот процесс начинается несколько позже – после 96 ч инкубации. При этом количество клеток с упорядоченной фрагментацией ДНК среди Лф больных было достоверно выше по сравнению с Лф доноров только после 72-часовой инкубации (табл. 2).

Инкубация Лф с индуктором апоптоза ФГА вызвала более выраженные, нежели инкубация с Дн, изменения изучаемых параметров на всех сроках инкубации. При этом достоверно выше, по сравнению с донорами, в Лф больных РЯ были падение $\Delta\psi$, уровень экспрессии ФС и фрагментация ДНК (табл. 2).

Следующим фактором, способным оказать влияние на запуск процессов апоптоза, является наличие на клеточной поверхности специализированных «рецепторов смерти», к которым относятся Fas-рецепторы (CD95). Наличие на клеточной поверхности рецепторов данного семейства определяет готовность клетки к Fas-индуцированному апоптозу при контакте с соответствующим лигандом. Данные рецепторы являются важнейшим сигналом для запуска апоптоза такими различными факторами, как цитокины, свободные радикалы, гормоны, цитостатики, моноклональные антитела (анти-Fas) и другие специфические лиганды [7].

В результате проведенных исследований было установлено, что экспрессия CD95 имела место на $66,5 \pm 11,2$ % клеток доноров, $74,1 \pm 10,9$ % Лф больных с III стадией и $75,0 \pm 13,7$ % Лф больных с IV клинической стадией заболевания. Разница между показателями Лф больных статистически незначима.

Важными являются результаты оценки величины изменений в ядре и клеточной мембране после инкубации Лф с анти-Fas-АТ. Показано, что если для Лф доноров величины $\Delta\psi$, уровня экспрессии ФС и фрагментации ДНК достоверно не отличаются от таковых при инкубации без анти-Fas-АТ, то для Лф больных РЯ вышеуказанные показатели достоверно и существенно превышают таковые как при «чистой инкубации», так и при инкубации с Дн и ФГА (табл. 2).

Таким образом, снижение $\Delta\psi$ Лф при использовании индукторов апоптоза может свидетельствовать об обязательном участии митохондрий в процессах программированной клеточной гибели Лф. Полученные данные позволяют говорить о том, что снижение $\Delta\psi$ является наиболее ранним признаком апоптоза Лф, который, возможно, способен инициировать другие его проявления. Полученные нами данные также свидетельствуют о том, что снижение величины митохондриального потенциала достоверно и существенно ($p=0,0009$) больше у больных РЯ по сравнению с донорами. Также достоверно выше по сравнению с донорами ($p=0,0006$) у данных больных содержание клеток с фрагментированной ДНК как при чистой инкубации, так и при использовании индукторов апоптоза.

Все вышеизложенное, по всей вероятности, может свидетельствовать о повышенной чувствительности Лф больных РЯ к апоптозу, что может быть обусловлено как «гиперреактивностью» их митохондрий, так и изменениями в экспрессии про- или антиапоптогенных белков, участвующих в каскаде реакций Fas-опосредованного апоптоза. При этом чувствительность Лф к апоптозу нарастает в динамике опухолевой прогрессии.

На сегодня в литературе нет единой точки зрения на роль НК (натуральных киллеров) в контроле за ростом первичных и метастатических опухолей. Одни авторы полагают, что их роль сводится лишь к предупреждению появления опухолевых клеток, а на растущую опухоль они влияют слабо. Другие, исходя из того что большинство опухолей человека являются спонтанными и низкоиммуногенными, а эффекторы системы естественного иммунитета распознают клетки любых опухолей, независимо от экспрессии специфических опухолевых антигенов, считают НК основным и универсальным механизмом защиты организма от опухолей различного происхождения [10].

У больных РЯ было обнаружено возрастание количество НК (CD16+) (рис. 2). При этом количество НК было повышено по сравнению с донорами и достигало максимальных значений на III клинической стадии РЯ.

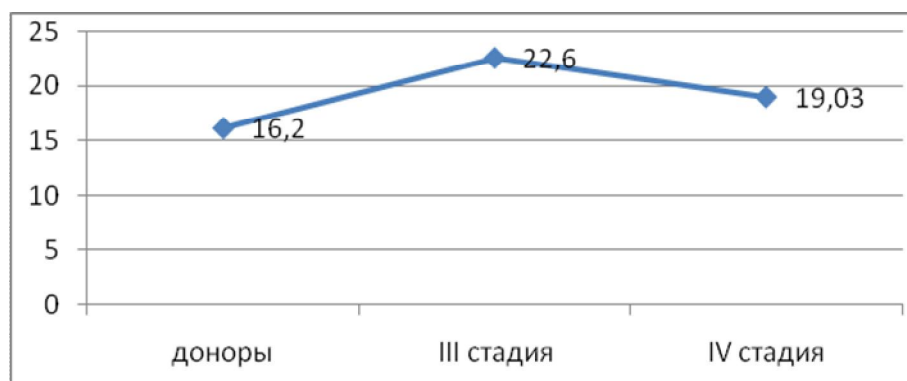


Рис. 2. Изменение количества NK (CD16) в периферической крови больных РЯ на III–IV клинических стадиях заболевания, %

При изучении количества CD16+–клеток у больных злокачественными новообразованиями различной локализации одни авторы отмечают его повышение на всех стадиях заболевания независимо от вида опухоли, другие не обнаруживают отличий по сравнению со здоровыми людьми [9]. В то же время при РЯ отмечено выраженное снижение канцеролитической и комплементарной активности сыворотки крови, обратно пропорциональное стадии заболевания. С другой стороны, данные эксперимента показывают, что быстро наступающий и прогрессирующий недостаток NK в течение развития ряда первичных и спонтанных опухолей может быть обусловлен не их исчезновением, а их инактивацией.

В свете вышеизложенного наблюдаемое в нашем исследовании повышение NK (CD16+) на III клинической стадии РЯ может свидетельствовать в пользу селекции NK-резистентных вариантов опухолевых клеток. При этом неоплазма в процессе опухолевой прогрессии может приобретать новые антигены, экспрессия которых ассоциируется с уменьшением или полной утратой цитотоксичности NK к этим клеткам. В пользу данного предположения могут свидетельствовать, в частности, данные [9], которые показали, что опухолевая ткань яичников гораздо богаче в антигенном отношении, чем нормальная ткань, либо за счет дивергенции, либо за счет антигенной реверсии, либо за счет значительного накопления антигенов, собственных нормальной ткани яичников.

Кроме того, опухолевые клетки сами могут синтезировать факторы, ингибирующие

активность NK путем блокирования рецепторов на эффекторной клетке.

В IV клинической стадии заболевания наблюдалось достоверное и выраженное снижение количества NK по сравнению с III стадией ($19,03 \pm 1,10$ %). Возможно, это связано с тем, что супрессорные клетки (количество которых на этой клинической стадии существенно повышено) или супрессивные факторы, выделяемые опухолью, могут ингибировать дифференцировку NK в эффекторные клетки.

При сохранении общего количества лейкоцитов периферической крови у больных РЯ на III и IV клинических стадиях заболевания значимо повышается количество Нф ($(4,1 \pm 0,1) \times 10^9/\text{л}$ и $(4,9 \pm 0,1) \times 10^9/\text{л}$ соответственно против $(3,7 \pm 0,1) \times 10^9/\text{л}$ в контроле). При этом фагоцитарный индекс и фагоцитарное число изменяются в пределах коридора нормы, но значимо возрастает абсолютный фагоцитарный индекс (АФИ), определяющий абсолютное число фагоцитирующих клеток в 1 л крови ($(3,1 \pm 0,2) \times 10^9/\text{л}$ и $(3,6 \pm 0,1) \times 10^9/\text{л}$ соответственно против $(2,8 \pm 0,2) \times 10^9/\text{л}$ в контроле). Это может свидетельствовать о способности организма на определенных этапах опухолевой прогрессии усиливать ослабленные механизмы фагоцитарных реакций путем увеличения абсолютного количества потенциальных фагоцитов в 1 л крови.

При оценке метаболизма Нф установлено, что у больных РЯ III–IV стадий, но без признаков инфекционного процесса значимо не изменяется число клеток, активных как в спонтанном, так и в индуцированном НСТ-тесте.

Описанные изменения окислительного метаболизма Нф при развитии неоплазмы дают представление об изменении способности этих клеток осуществлять кислородзависимую цитотоксичность. Установлено, что киллерный эффект Нф обусловлен также секрецией миелопероксидазы, которая с H_2O_2 в сочетании с внеклеточными галогенидами образует реакционно способные оксиданты, повреждающие клетки-мишени [5].

МПО является маркером первичных азурофильных гранул и определяется на всех этапах дифференцировки гранулоцитов. При этом по мере созревания клеток количество фермента увеличивается. На сегодня в литературе не существует единой точки зрения на уровень активности МПО при онкопатологии. Имеются данные о снижении, повышении или нормальной ее активности [9].

Нами установлено, что активность МПО в Нф больных РЯ III и IV клинических стадий заболевания снижена ($1,44 \pm 0,07$ и $1,30 \pm 0,04$ СЦК соответственно против $2,03 \pm 0,01$ СЦК в контроле).

Существующая на сегодня информация о том, что эффективность убивания бактерий в аэробных и анаэробных условиях существенно не различается, позволяет предполагать существование независимых от кислорода бактерицидных механизмов. Показано, что ферменты первичных гранул Нф ответственны за переваривание того, что Нф уже поглотил. Убивание же производится не только оксидантами, но и веществами, содержащимися в гранулах, в т.ч. КБ.

Данные литературы свидетельствуют о дефиците КБ у онкологических больных [5]. Нами также установлено, что уровень КБ в Нф периферической крови больных РЯ на III и IV стадиях статистически значимо снижен ($1,52 \pm 0,04$ и $1,23 \pm 0,12$ СЦК соответственно против $1,73 \pm 0,06$ СЦК в контроле).

В процессе опухолевой прогрессии наблюдалось снижение количества Нф, экспрессирующих дифференцировочный маркер CD15 [10]. Динамика клеток CD11a+ и CD11b+ была разнонаправленной, а изменения, по сравнению с показателями у доноров, статистически незначимыми (табл. 3).

Таблица 3

Динамика экспрессии дифференцировочных и активационных маркеров Нф периферической крови на распространенных стадиях РЯ

	CD11a+, %	CD11b+, %	CD15+, %
Доноры	$60,9 \pm 2,9$	$64,0 \pm 3,0$	$61,8 \pm 3,7$
Больные РЯ III стадии	$48,0 \pm 12,2$	$63,5 \pm 3,1$	$46,0 \pm 11,5$
Больные РЯ IV стадии	$71,2 \pm 4,2$	$60,7 \pm 6,5$	$37,0 \pm 5,6^*$

Примечание.* – данные, статистически значимо отличающиеся от контроля.

Наблюдаемые изменения рецепторного статуса и функционального состояния Нф на поздних стадиях РЯ могут рассматриваться как проявление системного действия опухоли на организм.

Нарушение баланса в системе цитокинов рассматривается как важный механизм развития многих патологических процессов. При этом крайне сложно определить, является ли возникновение и развитие патологического процесса причиной или следствием нарушения этого баланса. При злокачественном росте с цитокинами взаимодействуют две систе-

мы: неоплазма и иммунная система [2]. При этом опухолевые клетки могут как экспрессировать соответствующие рецепторы, так и продуцировать цитокины. IL-1 является медиатором как местного, так и дистантного действия на различные ткани и обладает широким спектром биологической активности. В опухолевом процессе большую роль играет IL-1 β . Фактор некроза опухоли (TNF- α) получил название по основному биологическому эффекту – лизису опухолевых клеток. Точка зрения о безусловном противоопухолевом влиянии TNF- α с середины 90-х гг.

была опровергнута убедительными доказательствами участия этого цитокина в канцерогенезе и опухолевой прогрессии. Продуцировать TNF- α способны многие опухолевые клетки, в т.ч. и клетки РЯ. При росте опухоли уровень содержания TNF- α в крови может повышаться как за счет его продукции опухолевыми клетками, так и в результате усиленного выделения макрофагами [8].

Интерфероны (IFN) представляют собой одну из самых быстрореагирующих систем иммунологической защиты. Точный механизм их противоопухолевого действия неизвестен. Предполагается прямое и не прямое противоопухолевое действие IFN [2].

IL-6 является мощным провоспалительным цитокином, как и IL-1 и TNF, но продуцируется несколько позже последних, ингибируя их образование. Установлено, что IL-6 обладает большим влиянием на регуляцию иммунного ответа: стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-клеток, секрецию иммуноглобулинов, усиливает антителообразование, участвует в продукции мультипотентных колониобразующих факторов и дифференцировке мегакариоцитов, может подавлять апоптоз нейтрофилов, обладающих высокой цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток, стимулирует гепатоциты к синтезу различных белков. Известно, что IL-6 стимулирует рост ряда экспериментальных опухолей: рака шейки матки, почки, толстой кишки, молочной и пред-

стательной желез. Имеющиеся литературные данные указывают, что при большинстве злокачественных новообразований выявляется увеличение уровня экспрессии IL-6, что сопровождается неблагоприятным клиническим течением заболевания. Влияние IL-6 на опухолевую прогрессию может осуществляться по следующим направлениям: экспрессия IL-6 в опухолях, возникающих из клеток, в норме не продуцирующих IL-6, и приобретение зависимости роста опухоли от IL-6 по мере опухолевой прогрессии (отсутствие чувствительности). IL-10 – противовоспалительный цитокин, который подавляет продукцию всех провоспалительных цитокинов, интерферонов, пролиферативный ответ Т-клеток на антигены, способствует развитию гуморальной составляющей иммунного ответа. Повышение IL-10 является плохим прогностическим признаком при онкопатологии. В последнее время появились данные о том, что эффект IL-10 в отношении опухолевого роста не столь однозначен. Так, показано ингибирующее действие IL-10, который продуцируется опухолевыми клетками мышей. Предполагается, что эффект зависит от исходного состояния иммунокомпетентных клеток.

В результате проведенных исследований установлено существенное и достоверное повышение уровня IL-1 β , IL-6, IL-10, IFN- γ и TNF- α у больных РЯ по сравнению со здоровыми (табл. 4).

Таблица 4

Уровень цитокинов у больных РЯ на различных клинических стадиях заболевания

Группы Показатели	Контроль (n=48)	Больные РЯ III стадии (n=40)	Больные РЯ IV стадии (n=40)
IL-1 β	36,80 \pm 10,74	248,50 \pm 9,00*	230,90 \pm 15,04*
TNF- α	31,00 \pm 2,82	104,80 \pm 9,90* $^{\circ}$	93,80 \pm 9,96* $^{\circ}$
IFN- γ	44,00 \pm 7,67	120,90 \pm 10,33* $^{\circ}$	114,40 \pm 15,17*
IL-6	7,66 \pm 2,28	34,38 \pm 9,74*	14,81 \pm 7,21 $^{\circ}$
IL-10	0,44 \pm 0,04	8,07 \pm 2,73*	10,68 \pm 5,53*

Примечание. Данные, статистически значимо отличающиеся от аналогичных: * – в контроле; $^{\circ}$ – соответствующих показателей на предыдущей клинической стадии заболевания.

Из данных табл. 4 следует, что уровни IL-1 β , TNF- α и IFN- γ статистически значимо повышены по сравнению с контролем на III–IV клинических стадиях заболевания. Наблюдаемые изменения уровня TNF- α и IFN- γ обнаружили прямую положительную корреляцию со стадией заболевания ($r=0,700$ и $r=0,120$ соответственно). Уровень IL-6 на III клинической стадии повышен в 4 раза по сравнению с группой контроля, а IL-10 – в 8 раз на III и в 10 раз – на IV стадии РЯ.

Источником данных провоспалительных цитокинов, видимо, могут быть как сами опухолевые клетки, так и клетки-эффекторы, круг которых расширяется по мере прогрессирования опухоли, так как организм все в большей степени использует воспалительный тип ответа на новообразование. Кроме того, прирост концентрации, в частности, TNF- α может обеспечиваться, по мнению ряда авторов [1], двумя аддитивными механизмами: селекцией клеток, резистентных к цитотоксическому действию TNF- α , и тем, что экспрессируемые опухолевыми клетками антигены также индуцируют повышенную продукцию TNF- α . При этом ограничение чувствительности рецепторов опухолевых клеток к регуляторным молекулам также предопределяет прирост концентрации цитокинов и их выраженное побочное влияние на рецепторы нормальных клеток.

Провоспалительные цитокины, и в частности IL-1 и TNF- α , обладают системным действием. Так, IL-1 способен проникать через гематоэнцефалический барьер и стимулировать в паравентрикулярном ядре гипоталамуса секрецию кортикотропинвысвобождающего фактора, который повышает в аденогипофизе выработку АКТГ. Последний инициирует в коре надпочечников выброс глюкокортикоидов [2]. Это ведет к усилению действия факторов стресса на все системы. TNF- α также инициирует активность эндокринных желез, что приводит к повышению уровня АКТГ, гонадотропина и других гуморальных факторов. Результатом системного действия на организм TNF- α и IL-1 является развитие продромального синдрома, проявляющегося снижением аппетита, сонливостью, лихорадкой, повышением болевой чувствительности.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о существенном изменении иммунного статуса у больных при распространенном РЯ. По мере прогрессирования опухоли иммунологическая среда теряет по отношению к ней агрессивность; развивается состояние иммунодепрессии. Иммуносупрессивные потенции злокачественно трансформированных клеток направлены на модулирование функциональной активности иммунокомпетентных клеток и проявляются в инактивации цитотоксической активности специфических и естественных киллеров, нейтрализации продуцируемых цитотоксических агентов, индукции апоптоза клеток иммунной системы. Прирост концентрации цитокинов определяется, с одной стороны, ограничением чувствительности к ним рецепторов опухолевых клеток, с другой – секрецией цитокинов опухолью и обеспечивает интеграцию опухоли в систему общего жизнеобеспечения организма. Ключевая роль при этом отводится цитокинам с системными эффектами: IL-1 β и TNF- α .

1. Антонов В. Г., Козлов В. К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспаление. 2004. № 1. С. 8–19.

2. Бережная Н. М., Чехун В. Ф. Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма). Киев : ДИА, 2000. 224 с.

3. Бойчук С. В., Мустафян И. Г., Фасахов Р. С. Механизмы дексаметазон-индуцированного апоптоза лимфоцитов при atopической бронхиальной астме // Пульмонология. 2003. № 2. С. 10–16.

4. Дейчман Г. И. Естественный отбор и ранние изменения фенотипа опухолевых клеток *in vivo*: приобретение новых механизмов защиты // Биохимия. 2000. Т. 65, № 1. С. 92–111.

5. Лаврова В. С., Чердынцева Н. В. Нейтрофилы и злокачественный рост. Томск, 1992. 124 с.

6. Олейник Е. К., Шibaев М. И., Олейник В. М. Маркеры активации лимфоцитов крови (CD25, CD71, CD95, HLA-DR) у онкологических больных // Гематология и трансфузиология. 2006. Т. 51, № 1. С. 18–22.

7. Рахлин Н. Т., Рахлин А. Н. Регуляция и проявления апоптоза в физиологических условиях и в опухолях // Вопр. онкологии. 2002. Т. 48, № 2. С. 159–171.

8. Рыдловская А. В., Симбирцев А. С. Функциональный полиморфизм гена TNF- α и патология // Цитокины и воспаление. 2005. № 3. С. 28–32.
9. Тотолян А. А., Фрейдлин И. С. Клетки иммунной системы. – СПб. : Наука, 2000. 231 с.
10. Черствой Е. Д., Портянко А. С. К вопросу об иммунном ответе при опухолях // Здоровоохранение. 2000. № 10. С. 32–34.
11. CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression / T. Sasada [et al.] // *Cancer*. 2003. № 5. P. 1089–1099.
12. Clinical significance of examining IL-2R in peripheral blood lymphocytes of patients with gastric cancer / X. Wang [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2001. № 12. P. 1320–1322.
13. Down-regulation of HLA class II and costimulatory CD86/B7-2 on circulating monocytes from melanoma patients / S. Ugurel [et al.] // *Cancer Immunol Immunother*. 2004. № 6. P. 551–559.

TUMOR-ASSOCIATING IMMUNOPATHOLOGY IN CASE OF THE WIDESPREAD CANCER YAICHNIKOV

T.P. Gening, I.I. Antoneeva, T.V. Abakumova, O.S. Voronova, D.R. Dolgova, S.O. Gening

Ulyanovsk State University

In peripheral blood of patients with cancer ovary at the III-IV stage of a disease evaluated subpopulation composition, spontaneous and induced apoptosis lymphocytes, phagocytic activity, cytotoxicity and the receptor status of neutrophils of peripheral blood, level pro-inflammatory cytokines. Essential change of the immune status at suffering from cancer ovary at the III-IV stages of a disease is set. In case of increase of total quantity of neutrophils of peripheral blood their ability to completed of phagocytosis decreases. Against lowering of total quantity of lymphocytes, lowering of the relative quantity of T-lymphocytes (CD3+) and their subpopulation (CD4+) increase of level of an expression on lymphocytes activation markers (CD25+, CD71+, CD95+) and HLA-DR+ takes place. Hypersensibility of lymphocytes of suffering from cancer ovary to apoptosis is also set. The significant increase in serum of blood of the IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α and IFN- γ level is shown. Data retrieved characterize antumour-associating secondary immunodeficiency in case of widespread forms of a cancer ovary.

Keywords: cancer ovary, lymphocytes, NK cells, neutrophils, cytokines, secondary immunodeficiency.