

© КУРТАСОВА Л.М., ХВАТ Н.С.

УДК 616.61-006.6-078.33

**ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У
БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ В ДИНАМИКЕ
ДО И ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

Л.М. Куртасова, Н.С. Хват

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздравсоцразвития РФ, ректор – д.м.н.,
проф. И.П. Артюхов; кафедра клинической иммунологии, зав. – д.м.н., проф.
Н.И. Камзалакова; КГБУЗ Красноярская краевая клиническая детская больница,
гл. врач – А.В. Павлов; клинико-диагностическая лаборатория, зав. – С.М.

Лобанова.

Резюме. *Обследовано 132 больных местно-распространенным раком почки в возрасте 45-55 лет в период до хирургического лечения и в динамике через 14 и 30 дней после радикальной нефрэктомии. Изучены показатели клеточного и гуморального иммунитета. Установлены изменения содержания количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, а так же иммунофенотипического спектра лимфоцитов крови в зависимости от периода наблюдения. Выявлены изменения концентрации IgG и IgM в сыворотке крови в динамике послеоперационного периода.*

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, иммунитет.

Куртасова Людмила Михайловна – д.м.н., проф. каф. клинической иммунологии КрасГМУ; e-mail: Sibmed-obozrenie@yandex.ru.

Хват Наталья Сергеевна – биолог клинико-диагностической лаборатории Красноярской краевой клинической детской больницы; e-mail: Khvat-Natasha@mail.ru

В настоящее время не подлежит сомнению центральная роль иммунной системы в противоопухолевой защите организма. При этом основная функция в противоопухолевом ответе принадлежит клеточному иммунитету, опосредованному естественными киллерными клетками и специфическими цитотоксическими Т-лимфоцитами [3,4]. Следует отметить, что активированные клетки иммунной системы генерируют широкий спектр цитокинов, являющихся регуляторами межклеточных взаимодействий [1,2,5]. Богатый набор рецепторов делает клетки иммунной системы высокочувствительными к разнообразным изменениям гомеостаза. Однако снижение функциональной активности иммунной системы, а так же особенности опухолевых клеток позволяют им не только преодолевать иммунологический барьер, но и оказывать иммуносупрессивное воздействие, а в некоторых случаях использовать медиаторы иммунной системы для собственной прогрессии [2,3]. Следовательно, изучение структурно-функциональных особенностей иммунной системы имеет важное значение при онкологических заболеваниях в целом, и у больных почечно-клеточным раком (ПКР) в частности.

Целью исследования явилось изучение показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных ПКР в период до оперативного лечения и в динамике послеоперационного периода.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 132 больных местно-распространенным почечно-клеточным раком в возрасте 45-55 лет в период до операции и в динамике через 14 и 30 дней после радикальной нефрэктомии. Исследование проводили на базе урологического отделения Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского. Диагноз почечно-клеточного рака у всех больных был подтвержден результатами гистологического исследования. Контрольную группу составляли 35 здоровых доноров.

Мононуклеары периферической крови выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина [6].

Методом непрямой иммунофлуоресценции, используя соответствующие FITC-меченые моноклональные антитела серии CD ООО «Сорбент» определяли содержание $CD3^{+}$ -, $CD4^{+}$ -, $CD8^{+}$ -, $CD16^{+}$ -, $CD19^{+}$ -, $HLA-DR^{+}$ -клеток в периферической крови. Содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови оценивали методом радиальной иммунодиффузии в геле [7].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA V. 6.0» (Stat Soft, Inc., США). Количественные параметры в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (C_{25} - C_{75}), где C_{25} – 25% процентиль, C_{75} – 75% процентиль. Проверку гипотезы о статистической достоверности величин исследуемых показателей в независимых выборках проводили с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

При исследовании иммунологических показателей у больных ПКР до хирургического лечения обнаружено достоверное снижение абсолютного и относительного содержания лимфоцитов крови по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы (табл. 1). При этом количество лейкоцитов крови у больных ПКР статистически значимых различий с параметрами контрольной группы не имеет. Изучение иммунофенотипического спектра лимфоцитов периферической крови в данный период наблюдения выявило уменьшение абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^{+}$), процентного и абсолютного содержания $CD4^{+}$ -клеток, а так же снижение абсолютного количества В-лимфоцитов относительно контрольных величин. Кроме того, обнаружено повышение относительного количества клеток, несущих на своей поверхности активационный маркер HLA-DR (табл.1).

Анализ иммунологических параметров у больных ПКР через 14 дней после хирургического лечения показал повышение содержания лейкоцитов в

периферической крови по сравнению с аналогичными показателями в дооперационном периоде. Следует отметить, что через 14 дней после операции наблюдается снижение числа лимфоцитов крови относительно соответствующих величин контрольной группы и периода до оперативного вмешательства (табл.1). При этом выявлено достоверное снижение процентного содержания зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) по сравнению с параметрами контроля. Так же обнаружено уменьшение абсолютного числа $CD3^+$ -клеток относительно показателей контрольной группы и дооперационного периода (табл.1). Установлено статистически значимое снижение абсолютного количества $CD4^+$ -клеток и $CD8^+$ -позитивных Т-лимфоцитов в периферической крови по сравнению с величинами контрольной группы. Кроме того, отмечается снижение $CD8^+$ -клеток как по относительным, так и абсолютным показателям по сравнению с параметрами зафиксированными у наблюдаемых больных в периоде до операции. Помимо этого у больных в данный период наблюдения отмечено повышение процентного соотношения $CD4^+/CD8^+$ -клеток относительно показателей, установленных в периоде до хирургического лечения (табл. 1). Выявлено повышение процентного содержания $CD16^+$ -клеток относительно показателей контрольной группы. При этом абсолютное число $CD16^+$ -клеток снижено по сравнению с величинами контроля и показателями, зарегистрированными у больных в дооперационном периоде. Процентное содержание $CD19^+$ -лимфоцитов не отличается статистически значимо от параметров контрольной группы, а понижение их абсолютного количества, очевидно, связано с имеющейся в этот период наблюдения у больных ПКР лимфопенией. Необходимо отметить сохранение повышенной экспрессии «позднего» активационного маркера ($HLA-DR^+$) у больных ПКР в период через 14 дней после оперативного вмешательства (табл. 1).

При сравнительном анализе у наблюдаемых больных через 30 дней после оперативного вмешательства обнаружено снижение числа лейкоцитов периферической крови относительно показателей зарегистрированных в период до операции и через 14 дней после хирургического лечения (табл.1).

Установлено, что через 30 дней после хирургического лечения у больных ПКР сохраняется пониженным процентное содержание лимфоцитов в периферической крови относительно показателей контрольной группы, в то же время оно превышает величины, зарегистрированные в периоде до операции и через 14 дней после хирургического лечения. Абсолютное число лимфоцитов периферической крови не имеет статистически значимых различий, как с показателями контрольной группы, так и с периодом до операции и достоверно превышает параметры зафиксированными в периоде через 14 дней после оперативного вмешательства (табл.1).

У больных ПКР через 30 дней после хирургического лечения выявлено снижение процентного и абсолютного количества зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и $CD4^+$ -клеток по сравнению с показателями контрольной группы. Относительное и абсолютное содержание $CD8^+$ -клеток с параметрами контроля статистически значимых различий не имели, при этом абсолютные показатели достоверно превосходили величины зарегистрированные в периоде через 14 дней после хирургического лечения. Одновременно с отмеченными изменениями установлено, что процентное количество $CD16^+$ -клеток превышает показатели контроля, а абсолютное их число достоверно увеличено по сравнению с параметрами зарегистрированными в периоде через 14 дней после операции (табл. 1).

При исследовании содержания В-лимфоцитов периферической крови в периоде через 30 дней после оперативного вмешательства обнаружено уменьшение абсолютного числа $CD19^+$ -клеток относительно показателей контрольной группы и повышение их количества по сравнению с величинами, зарегистрированными в период через 14 дней после хирургического лечения. Уровень экспрессии поверхностного маркера клеточной активации ($HLA-DR^+$), соответствует значениям контрольной группы и достоверно ниже показателей зарегистрированных в периоде до операции и через 14 дней после радикальной нефрэктомии (табл.1).

Реакция гуморального звена иммунитета у больных ПКР в дооперационном периоде характеризовалась понижением концентрации IgG в сыворотке крови по сравнению с показателями контрольной группы. При этом содержание IgA и IgM статистически значимых различий с параметрами контроля не имели (табл.2).

При оценке гуморального звена иммунитета у больных ПКР через 14 дней после хирургического лечения обнаружено достоверное снижение содержания IgG в сыворотке крови как относительно показателей контроля, так и по сравнению с параметрами, зарегистрированными в периоде до оперативного вмешательства (табл.2).

У больных ПКР через 30 дней после хирургического лечения содержание IgG в сыворотке крови находится на уровне достоверно более низком, чем в контрольной группе и превышает показатели, зарегистрированные в периоде через 14 дней после операции. Кроме того, у больных ПКР в данный период наблюдения установлено статистически значимое повышение концентрации IgM в сыворотке крови относительно параметров зафиксированных в периоде через 14 дней после хирургического лечения (табл.2)

Таким образом, результаты проведенных исследований установили у больных ПКР в период до хирургического лечения нарушения в иммунной системе, проявляющиеся лимфопенией, снижением количества $CD4^{+}$ -клеток, обладающих хелперно-индукторными свойствами, усилением экспрессии лимфоцитами поверхностного маркера поздней активации (HLA-DR), понижением уровня IgG в сыворотке крови. В послеоперационном периоде у больных ПКР отмечается положительная динамика исследуемых иммунологических показателей, которая, возможно, обусловлена реакцией иммунной системы на удаление опухоли, как очага иммуносупрессии. Однако у больных ПКР и через 30 дней после хирургического лечения не происходит полного восстановления параметров иммунного статуса, что, вероятно, необходимо учитывать при разработке иммунореабилитационных программ у данной категории больных.

THE CHANGES OF THE IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA IN DYNAMICS BEFORE AND AFTER SURGERY

L.M. Kurtasova, N.S. Khvat

Krasnoyarsk regional clinical children's hospital

Abstract. Were examined 132 patients with locally advanced kidney cancer at the age of 45-55 years old prior to the surgery and in the dynamics after 14 and 30 days after radical nephrectomy. Were studied the data of cellular and humoral immunity. Were established the changes of the content of the leukocytes number and lymphocytes in the peripheral blood, as well as immunophenotypic spectrum of blood lymphocytes depending on the period of observation. Were revealed the changes of the concentration of IgG and IgM in serum in the dynamics of the postoperative period.

Key words: renal cell carcinoma, the immune system.

Литература

1. Ахматова Н.К. Врожденный иммунитет противоопухолевый и противoinфекционный. – М.: Практическая медицина, 2008. – 256с.
2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – Киев: Наукова думка, 2005. – 790с.
3. Козлов В.А., Черных Е.Р. Современные проблемы иммунотерапии в онкологии // Бюл. СО РАМН. – 2004. – №2. – С.13-19.
4. Молчанов О.Е., Карелин М.И. Иммунологический мониторинг биотерапии диссеминированных форм почечно-клеточного рака // Онкоурология. – 2009. – №4. – С.13-18.
5. Романюха А.А. Иммунная система норма и адаптация // Иммунология. – 2009. – Т.30, №1. – С.7-13.
6. Boyum A. Isolation of lymphocytes from blood and bone marrow // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – Vol.21 (Suppl. 97). – P.77-80.
7. Mancini G., Carbonaro A. O., Haremans J. F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion // Immunochemistry. – 1965. – Vol.2 (Suppl. 3). – P.235-255.

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета у больных ПКР до операции и в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контрольная группа (n= 35)	Больные до операции (n= 132)	Больные через 14 дней после операции (n= 119)	Больные через 30 дней после операции (n= 44)
	1	2	3	4
	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,20 3,10-6,30	5,00 4,20-6,00	5,50 4,70-6,60 p ₂ <0,01	4,30 3,90-5,10 p ₂ <0,05 p ₃ <0,001
Лимфоциты, %	34,5 27,0-37,0	21,0 14,0-26,0 p ₁ <0,001	16,0 11,0-21,0 p _{1,2} <0,001	26,5 20,0-36,0 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01 p ₃ <0,001
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,52 1,16-2,20	1,03 0,67-1,36 p ₁ <0,01	0,84 0,64-1,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	1,36 0,95-1,49 p ₃ <0,01
CD3 ⁺ , %	49,0 44,0-55,0	47,0 40,0-53,0	46,0 40,0-52,0 p ₁ <0,05	45,5 37,0-52,0 p ₁ <0,05
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,65 0,43-1,13	0,50 0,29-0,60 p ₁ <0,05	0,35 0,26-0,51 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	0,56 0,29-0,66 p ₁ <0,05 p ₃ <0,01
CD4 ⁺ , %	28,0 21,0-29,0	23,0 18,0-29,0 p ₁ <0,05	23,0 19,0-31,0	22,0 16,0-25,0 p ₁ <0,01
CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,42 0,23-0,45	0,21 0,13-0,31 p ₁ <0,01	0,17 0,12-0,30 p ₁ <0,01	0,26 0,10-0,33 p ₁ <0,05
CD8 ⁺ , %	22,0 18,0-26,0	22,0 19,0-29,0	22,5 14,0-26,0 p ₂ <0,05	22,0 19,0-24,0
CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,35 0,16-0,66	0,24 0,14-0,34	0,16 0,10-0,24 p _{1,2} <0,01	0,28 0,17-0,33 p ₃ <0,01
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	1,19 0,72-1,47	1,05 0,67-1,38	1,09 0,76-1,93 p ₂ <0,05	0,94 0,65-1,27 p ₃ <0,05
CD16 ⁺ , %	28,0 21,0-30,0	28,0 21,0-36,0	29,0 24,0-34,0 p ₁ <0,05	30,0 26,0-34,0 p ₁ <0,05
CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,37 0,22-0,49	0,30 0,23-0,39	0,25 0,17-0,39 p _{1,2} <0,05	0,35 0,24-0,45 p ₃ <0,05
CD19 ⁺ , %	26,0 18,0-29,0	24,0 19,0-29,0	25,0 20,0-30,0	26,0 19,0-29,0
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,44 0,34-0,55	0,23 0,15-0,34 p ₁ <0,01	0,21 0,13-0,32 p ₁ <0,001	0,29 0,19-0,39 p _{1,3} <0,05
HLA-DR ⁺ , %	35,0 30,0-42,0	40,5 32,0-53,0 p ₁ <0,05	40,5 33,0-52,0 p ₁ <0,01	35,5 30,0-41,0 p _{2,3} <0,05
HLA-DR ⁺ , 10 ⁹ /л	0,61 0,42-0,74	0,41 0,32-0,50	0,39 0,26-0,57 p ₁ <0,05	0,42 0,20-0,57 p ₁ <0,05

Примечание: p₁ – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p₂ – статистически достоверные различия с показателями больных

ПКР до хирургического лечения, p_3 – статистически достоверные различия с показателями больных ПКР через 14 дней после операции.

Таблица 2

**Показатели гуморального иммунитета у больных ПКР до и в
динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)**

Параметры	Контрольная группа (n=35) 1	Больные до операции (n=132) 2	Больные через 14 дней после операции (n=119) 3	Больные через месяц после операции (n=44) 4
	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅	Me, C ₂₅ -C ₇₅
IgA, (г/л)	2,40 1,10-2,90	2,90 1,27-3,90	2,50 1,65-3,50	2,65 1,70-3,70
IgM, (г/л)	0,90 0,70-0,93	0,90 0,60-1,30	0,90 0,42-1,30	1,00 0,80-1,30 $p_3 < 0,05$
IgG, (г/л)	16,20 13,54-18,10	11,60 7,66-16,50 $p_1 < 0,01$	9,50 6,80-13,70 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	11,45 9,38-15,50 $p_{1,3} < 0,01$

Примечание: p_1 – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p_2 – статистически достоверные различия с показателями больных ПКР до хирургического лечения, p_3 – статистически достоверные различия с показателями больных ПКР через 14 дней после операции.