

## НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ВУЛЬВЫ

Неродо Г.А., Златник Е.Ю., Загора Г.И., Неродо Е.А.

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63, e-mail: onko-sekretar@mail.ru.*

Проведено изучение состояния иммунной системы у 191 больной раком вульвы I–IV стадии заболевания в возрасте от 31 до 80 лет. Проводили оценку Т- и В-клеточного звена иммунной системы, состояние НК-клеток, изучали показатели макрофагальной трансформации моноцитов и уровень ЦИК. Анализ состояния иммунной системы у больных с I стадией заболевания позволил установить, что основные показатели находились в пределах колебаний, характерных для здоровых женщин, однако общее количество Т-клеток (CD2+) снижено в два раза за счет достоверного уменьшения числа лимфоцитов в периферической крови. У больных со II стадией пролиферативная активность Т-клеток на ФГА достоверно снижалась как в процентах, так и в абсолютных цифрах. Для больных с III стадией выявлено снижение количества Т- и В-лимфоцитов, способных трансформироваться под действием митогенов на 30 и 20% соответственно. В IV-й стадии количество функционально активных Т- и В-лимфоцитов продолжает достоверно снижаться; уровень ЦИК в крови больных начиная с I стадии достоверно увеличивается и превышает в IV стадии уровень здоровых женщин в 2 раза. Обобщенные результаты представленных данных свидетельствуют, что по мере распространенности процесса нарастает количество статистически значимо измененных по сравнению с нормой показателей, которое достигает максимума у больных с IV стадией.

Ключевые слова: рак вульвы I–IV стадий, состояние иммунной системы, количественный и качественный иммунодефицит.

## SOME CHARACTERISTICS OF IMMUNE STATUS IN VULVAR CANCER PATIENTS

Nerodo G.A., Zlatnik E.Y., Zakora G.I., Nerodo E.A.

*Federal State Budget Institution "Rostov Research Oncologic Institute" Ministry of Health and Social Development of Russia 63, 14 Line, Rostov-on-Don, 344037, e-mail: onko-sekretar@mail.ru*

The study concerns the state of immune system of 191 patients having vulvar cancer st. I-IV aged 31-80. T- and B-cellular links of immune system, state of NK-cells, parameters of macrophage transformation of monocytes and the level of circulating immune complexes (CIC) were assessed. The analysis of immune system state in patients with vulvar cancer st. I showed that main parameters were within the limits characteristic of healthy women; however, there was a two-fold decrease in the total number of T-cells (CD2+) because of significant reduction of lymphocyte number in peripheral blood. At st. II proliferative activity of T-cells on phytohemagglutinin (PHA) significantly decreased both in percentage and in absolute numbers. At st. III there was decrease of T- and B-lymphocytes capable of transforming under the influence of mitogens, by 30% and 20%, correspondingly. At st. IV the number of functionally active T- and B-lymphocytes continued to decrease; the level of CIC in the patients' blood was increasing significantly starting at st. I, and at st. IV was twice as much as the level of healthy women. Generalized study results show that in comparison with the norm the number of statistically significant changed parameters increased with the process extent, reaching its maximum at st. IV.

Key words: vulvar cancer st. I-IV, state of immune system, quantitative and qualitative immune deficiency .

В настоящее время известно, что при кажущихся одинаковых условиях опухолевая болезнь протекает по-разному. У одних больных – бурное, агрессивное течение с быстро наступающей генерализацией и гибелью, у других – медленная форма течения с

длительным периодом без рецидива и метастазирования и с благоприятным исходом, иногда с полным излечением, что объясняется исходным состоянием иммунной системы онкологического больного [1; 8].

По мере прогрессирования злокачественного процесса наступает субкомпенсация и, наконец, декомпенсация коррелятивных связей, отдельных звеньев иммунной системы. Изучение иммунного статуса, отражающего весьма сложные и многообразные взаимоотношения организма и опухоли у больных с онкологической патологией приобретает все большее значение. По имеющимся в литературе данным состояние иммунной системы у больных раком вульвы к настоящему времени мало изучено. Имеется публикация В.Л. Lindegue, А.Е. Nel, L.P. Joit 1987 года, где авторы приводят описание наблюдения инвазивного рака вульвы у молодой женщины с наличием иммунодефицита.

Преклонный возраст больных раком вульвы, выраженная запущенность при первичном обращении, агрессивное клиническое течение заболевания, наличие целого ряда некомпенсированных сопутствующих заболеваний, трудность в выборе адекватного лечения, неудовлетворительные результаты лечения, недостаточность иммунитета при старении [3], все это вместе представляет определенный интерес для изучения иммунной системы у больных раком вульвы.

В 1992 г. Воробьевой Л.И. с соавт. опубликована работа о влиянии противоопухолевой терапии на факторы клеточного и гуморального иммунитета у больных злокачественными опухолями вульвы. Ими представлены некоторые показатели иммунной системы у 72 больных опухолями вульвы и отмечено, что у больных раком вульвы происходит нарушение состояния иммунной системы, которое характеризуется снижением относительного количества Т- и В-лимфоцитов, дисиммуноглобулинемией, повышением концентрации иммунных комплексов, появлением в крови факторов, блокирующих эффекторные функции лимфоцитов.

**Материал и методы.** Изучение состояния иммунной системы нами было проведено у 191 больной раком вульвы в возрасте от 31 до 80 лет. По стадиям заболевания больные распределились следующим образом: I стадия – 38; II – 52; III – 60; IV стадия – 41 больная. Контролем служили результаты обследования 30 практически здоровых женщин сравнимого возраста.

Для оценки состояния Т- и В-клеточного звеньев иммунной системы проводили выделение лимфоцитов из периферической крови в градиенте фиккол-верографина (плотность 1,077–1,078) с последующим трехкратным осаждением средой 199. Жизнеспособность лимфоцитов оценивали по проценту неокрашенных клеток после

добавления к взвеси 0,2% раствора трипанового синего. Количество погибших клеток не превышало 2–3%.

Состояние Т-клеток изучали в ряде количественных и функциональных тестов. Общее содержание Т-лимфоцитов определяли в реакции спонтанного розеткообразования (РСРО) с эритроцитами барана [9]. Функциональную активность Т-лимфоцитов оценивали в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) после 48–72-часового культивирования при 37 °С в присутствии 5% CO<sub>2</sub> в полной культуральной среде, содержащей среду RPMI-1640 с 10%-ной инактивированной эмбриональной телячьей сывороткой («Flow Lab.»), 5×10<sup>-5</sup>М 2-меркаптоэтанола («Serva»), 2 мМ L-глутамина, 10 мМ буфера HEPES («Flow Lab.»), 50 мкг/мл гентамицина, с добавлением Т-митогена ФГА в дозе 5 мкг/мл [7]. Параллельно оценивали спонтанную бласттрансформацию, для чего вместо митогена в пробу добавляли равный объем культуральной среды.

Состояние В-клеточного звена иммунной системы определяли по содержанию В-лимфоцитов в крови в РСРО с эритроцитами мыши. Функциональную активность В-клеток изучали в РБТЛ с ЛПС, аналогом которого является пирогенал, в дозе 50 ЕД/мл при тех же условиях, что и РБТЛ с Т-клеточным митогеном.

Состояние НК-клеточного звена оценивали по содержанию в крови больших гранулярных лимфоцитов – БГЛ, которое подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму. Состояние моноцитарно-макрофагального звена оценивали по показателю макрофагальной трансформации моноцитов (ПМТМ) [4]. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли по измерению оптической плотности сыворотки после инкубации с 3,5% ПЭГом [6; 7]. Результаты клеточных тестов выражали в процентных и абсолютных (×10<sup>9</sup>/л) значениях, ЦИК – в усл. ед. оптической плотности.

Для обработки полученных результатов применяли параметрические и непараметрические методы. При малой выборке использовали непараметрический критерий Вилкоксона–Манна–Уитни. Критерий достоверности определяли по Стьюденту [5].

**Результаты.** Результаты изучения исходных показателей иммунного статуса больных раком вульвы в зависимости от стадии заболевания представлены в таблицах 1 и 2 в относительных величинах (в %) и в абсолютных значениях к числу лейкоцитов (×10<sup>9</sup>/л). Анализ состояния иммунной системы у больных с I стадией заболевания позволил установить, что основные показатели находились в пределах колебаний, характерных для здоровых женщин соответствующего возраста. Пролиферация лимфобластов на митоген ФГА соответствовала нормальным показателям: РБТЛ на ФГА – 48,0± 4,3%. Однако

функциональная активность в абсолютных показателях Т-клеток снижена и составляла на митоген ФГА –  $0,38 \pm 0,08 \times 10^9$ /л (при сравнении со здоровыми ( $p < 0,05$ )). По-видимому, иммунная система больных с I стадией заболевания еще способна к регуляции. При анализе относительных величин в периферической крови выявлено, что количество Т-лимфоцитов (CD2+) равно  $66,0 \pm 3,2\%$ , активность макрофагов при трансформации из моноцитов периферической крови равна  $60,2 \pm 2,1\%$ , и количество НК (БГЛ) также в пределах нормы –  $13,0 \pm 3,2\%$ . В то же время при рассмотрении этих показателей иммунной системы в абсолютных цифрах выявлено, что общее количество Т-клеток (CD2+)-  $0,53 \pm 0,07 \times 10^9$ /л достоверно снижено в два раза за счет достоверного уменьшения числа лимфоцитов в периферической крови. У женщин с I стадией болезни имеет место напряженность иммунной системы, так как уровень рецепторно активных иммуноцитов составляет почти три четверти от всей массы Т-лимфоцитов. Следует отметить, что трансформация моноцитов в макрофаги угнетена – ПМТМ равен  $0,48 \pm 0,05 \times 10^9$ /л (против  $1,12 \pm 0,03$  у здоровых, ( $p < 0,05$ ), что в какой-то мере определяет дальнейший рост опухоли (за счет угнетения первичной иммунной реакции и разрушения регуляции ингибцией или снижением уровня интерлейкинов). У больных с первой стадией заболевания имел место высокий уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) –  $36,8 \pm 4,1$  по сравнению с  $25,0 \pm 3,3$  у здоровых женщин.

**Таблица 1 – Сравнительная характеристика показателей иммунного статуса у больных раком вульвы I–IV стадий (%)**

Показатели	Стадии заболевания				Здоровые женщины
	I	II	III	IV	
Лимфоциты	$22,3 \pm 1,3^*$	$21,3 \pm 1,9^*$	$20,0 \pm 2,5^*$	$20,8 \pm 2,3^*$	$31,5 \pm 3,2$
Моноциты	$4,1 \pm 0,2^*$	$4,9 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,9$	$3,5 \pm 0,5^* \blacksquare$	$5,6 \pm 0,6$
Т-лимф. (CD2+)	$66,0 \pm 3,2$	$59,1 \pm 1,8 \blacktriangledown$	$60,0 \pm 1,2$	$60,2 \pm 2,9$	$65,0 \pm 3,1$
РБТЛ (ФГА)	$48,0 \pm 4,3$	$34,0 \pm 2,6^* \blacktriangledown$	$33,0 \pm 2,3^* \blacktriangledown$	$27,5 \pm 2,4^* \blacktriangledown$	$52,2 \pm 2,4$
РБТЛ (ЛПС)	$41,0 \pm 4,0$	$37,0 \pm 2,5^*$	$35,1 \pm 2,2^*$	$33,0 \pm 2,2^*$	$50,3 \pm 3,2$
НК (БГЛ)	$13,0 \pm 3,2$	$12,0 \pm 3,2$	$12,1 \pm 2,3$	$11,0 \pm 2,1$	$13,0 \pm 3,1$
ПМТМ	$60,2 \pm 2,1$	$56,0 \pm 3,3$	$45,0 \pm 3,1^* \blacktriangledown \blacksquare$	$42,0 \pm 2,2^* \blacktriangledown \blacksquare$	$59,0 \pm 3,3$
ЦИК (у.е.)	$36,8 \pm 4,1^*$	$41,0 \pm 3,3^*$	$59,2 \pm 2,7^* \blacktriangledown \blacksquare$	$55,0 \pm 3,1^* \blacktriangledown \blacksquare$	$25,0 \pm 3,3$

\* – статистически достоверные отличия от здоровых ( $P < 0,05$ );

- ▼ – отличия от I стадии;
- – отличия от II стадии.

При анализе показателей иммунного статуса больных раком вульвы со II стадией заболевания оказалось, что пролиферативная активность на ФГА достоверно снижалась по сравнению как с показателями здоровых женщин, так и по сравнению с данными больных с I стадией заболевания. Так, РБТЛ на ФГА равно  $34,0 \pm 2,6\%$ , а данные, полученные при изучении показателей в абсолютных цифрах на ФГА –  $0,28 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$ , достоверно снижены по сравнению с таковыми у здоровых женщин ( $p < 0,05$ ).

Низкие уровни регулирования обуславливали снижение активности трансформации макрофагов и В-лимфоцитов. Количество Т-лимфоцитов (CD 2 +) имело только тенденцию к снижению от  $66,0 \pm 3,2\%$  при I стадии к  $59,0 \pm 1,8\%$  во II стадии.

**Таблица 2 – Сравнительная характеристика показателей иммунного статуса у больных раком вульвы I–IV стадий ( $\times 10^9/\text{л}$ )**

Показатели	Стадии заболевания				Здоровые женщины
	I	II	III	IV	
Лимфоциты	$0,9 \pm 0,04^*$	$0,85 \pm 0,06^*$	$0,80 \pm 0,03^*$	$0,83 \pm 0,05^*$	$1,89 \pm 0,3$
Моноциты	$0,16 \pm 0,01^*$	$0,19 \pm 0,02^*$	$0,16 \pm 0,03^*$	$0,14 \pm 0,02^*$	$0,34 \pm 0,09$
Т-лимф. (CD2+)	$0,53 \pm 0,07^*$	$0,48 \pm 0,04^*$	$0,55 \pm 0,06^*$	$0,53 \pm 0,04^*$	$1,2 \pm 0,07$
РБТЛ (ФГА)	$0,38 \pm 0,08^*$	$0,28 \pm 0,05^*$	$0,31 \pm 0,07^*$	$0,26 \pm 0,04^* \blacktriangledown$	$0,89 \pm 0,04$
РБТЛ (ЛПС)	$0,33 \pm 0,04^*$	$0,30 \pm 0,02^*$	$0,32 \pm 0,02^*$	$0,29 \pm 0,03^*$	$0,86 \pm 0,04$
НК (БГЛ)	$0,10 \pm 0,009^*$	$0,09 \pm 0,007^*$	$0,11 \pm 0,009^*$	$0,09 \pm 0,005^*$	$0,24 \pm 0,03$
ПМТМ	$0,48 \pm 0,05^*$	$0,46 \pm 0,03^*$	$0,41 \pm 0,05^*$	$0,37 \pm 0,03^* \blacktriangledown \blacksquare$	$1,12 \pm 0,03$

- \* – статистически достоверные отличия от здоровых ( $P < 0,05$ );
- ▼ – отличия от I стадии;
- – отличия от II стадии.

По мере распространения опухолевого процесса неблагоприятные тенденции изменения иммунного статуса усиливаются, что проявляется при оценке относительных и абсолютных значений исследуемых параметров. У больных с III стадией рака вульвы отмечен более выраженный дисбаланс состояния иммунной системы. У них наблюдалось

статистически достоверное повышение уровня ЦИК в крови по сравнению с начальными стадиями, и тем более с показателями здоровых женщин. Количество Т- и В-лимфоцитов, способных трансформироваться под действием митогенов, было снижено на 30 и 20% соответственно. Содержание моноцитов остается на уровне I стадии, однако их функциональная активность (ПМТМ) статистически достоверно снижается (табл. 1, 2).

У больных с IV стадией рака вульвы процентное содержание Т-лимфоцитов остается на уровне больных со II и III стадиями. При этом количество функционально активных Т-лимфоцитов статистически достоверно снижается с 48,0±4,3% до 27,5±2,4%; количество ЛПС-стимулированных В-лимфоцитов имеет тенденцию к снижению и уменьшается на 20% по сравнению с показателями больных, находящихся в I стадии. Функциональная активность моноцитов/макрофагов также оказалась ниже, чем у больных I и II стадий заболевания. Уровень ЦИК в крови больных с IV стадией в 2 раза выше, чем в сравниваемой группе здоровых женщин, и статистически достоверно превышает показатели больных с I и II стадиями рака вульвы (табл. 1).

Обобщенные результаты представленных данных в таблицах 1 и 2 свидетельствуют, что по мере распространенности процесса нарастает количество статистически значимо измененных по сравнению с нормой показателей, которое достигает максимума у больных с IV стадией. Следует отметить, что снижение функциональных показателей моноцитарно-макрофагального, Т-клеточного и В-клеточного звеньев наступает при более ранних стадиях, чем угнетение количественных параметров.

**Выводы.** Таким образом, изучение иммунного статуса больных раком вульвы показало наличие количественного и качественного иммунодефицита, степень которого характерна для каждой стадии заболевания. Высокая концентрация ЦИК блокирует активность иммунокомпетентных клеток, и прежде всего регуляторных лимфоцитов. По мере распространения опухолевого процесса нарастают нарушения в иммунной системе, которые требуют специальной коррекции.

### Список литературы

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – Киев : Наука Думка, 2005. – 792 с.
2. Воробьева Л.И., Галахин В.А., Гриневич и соавт. Влияние противоопухолевой терапии на факторы клеточного и гуморального иммунитета у больных опухолями вульвы // Экспериментальная онкология. – 1992. – Т. 14. – № 4. – С. 70-73.

3. Воробьева Л.И. Шляхи підвищення ефективності лікування злоякісних новоутворень вульви : автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Киев, 1993.
4. Демченко Т.А., Джагинян А.И. Метод количественной оценки макрофагов в клинической иммунологии // Иммунология. – 1981. – № 4. – С. 83-85.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М., Медицина, 1990. – 352 с.
6. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М., 1987. – 292 с.
7. Фримель Х. Иммунологические методы. – М., 1987. – 456 с.
8. Хаитов Р.М. и соавт. Иммунология. Медицина. – М., 2000. – 432 с.
9. Jondal M., Holm G., Wigzell H. Surface markers of human T- and B-lymphocytes. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red cells // J. exp. Med. – 1972. – V. 136. – P. 207-222.
10. Lindeque B.G., Nel A.E., du Toit G.P. Immune deficiency and invasive carcinoma of the vulva in a young woman: A case report // Gynecological Oncology. – 1987. – V. 26. – № 1. – P. 112-118.

#### **Рецензенты**

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.

Николаева Н.В., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, врач-гематолог отделения гематологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», г. Ростов-на-Дону.