

УДК 616.5-006.6-097

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ КОЖИ

В.В. Масляков, О.И. Дралина, Ю.Б. Власенко

Проведено изучение иммунного статуса у пациентов с базально-клеточным раком кожи. Установлено, что базально-клеточный рак кожи развивается в случае изменений как в клеточном, так и в гуморальном звеньях иммунитета. Отмечено, что выполнение оперативного лечения не приводит к ликвидации иммунодефицитного состояния.

Ключевые слова: базально-клеточный рак кожи; иммунный статус; патофизиологические механизмы.

PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF IMMUNOLOGICAL VIOLATIONS AT THE BASAL CELL SKIN CANCER

V.V. Maslyakov, O.I. Dralina, Yu.B. Vlasenko

Studying of the immune status at patients with the basal cell skin cancer is carried out. It is established the basal cell skin cancer develops in the case of changes both in cellular, and in humoral immunity links. It is noted that performance of expeditious treatment doesn't lead to elimination of an immunodeficiency.

Keywords: basal cell skin cancer; immune status; pathophysiological mechanisms.

Введение. Базально-клеточный рак кожи относится к одному из самых распространенных онкологических процессов со своеобразным течением, которое характеризуется медленным ростом, редким возникновением метастазов в лимфоузлы и внутренние органы. По литературным данным, возникновение базалиом чаще всего происходит на фоне иммунодефицитных состояний больных [1–3]. При этом, по мнению Т.П. Пискаловой (2004) [4], иммунная система отвечает на развитие опухоли перераспределением иммуноцитов, а также существенным увеличением общего количества NK клеток и числа В-лимфоцитов, а также усилением продукции цитокинов, Т-хелперов 1-IL-2, INF γ . Выявлено снижение относительного и абсолютного числа лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD45RO, т. е. клеток наивного фенотипа, а также клеток, несущих CD95-мембранные молекулы, отражающие их готовность к апоптозу, а также уменьшение числа иммуноцитов с морфологически выраженной картиной апоптоза.

Цель исследования – изучить патофизиологические механизмы иммунологических нарушений при базально-клеточном раке.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели проведено изучение иммунного

статуса у 39 пациентов, возраст которых составил 65 ± 3 года. Исследования проводились до оперативного лечения, в первые, на 5-е, 7-е, 10-е послеоперационные сутки и через 18 мес. после перенесенной операции. Для сравнения изучены показатели иммунитета у 17 относительно здоровых добровольцев того же возраста и пола (группа сравнения 1) и 20 пациентов, оперированных по поводу фибромы кожи (группа сравнения 2), возраст и пол пациентов из группы сравнения 2 совпал с данными основной группы, изучение показателей проводилось в те же сутки. Всем пациентам диагноз подтвержден морфологически до проведения оперативного лечения. Оперативное лечение выполнялось под местной анестезией. При раке проводилось широкое иссечение образования, при доброкачественных новообразованиях – иссечение образования.

При изучении иммунного статуса определялись следующие показатели: субпопуляции Т- и В-лимфоцитов: количество в периферической крови лимфоцитов, несущих рецепторы CD3 (зрелые Т-лимфоциты); CD4 (субпопуляция Т-клеток); CD8 (цитотоксические Т-клетки); CD16 (натуральные киллеры); CD20 (В-клетки), а также соотношение CD4/CD8. Изучение названных

Таблица 1 – Содержание различных субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов основной группы и в группе сравнения до оперативного лечения ($M \pm m$)

| Субпопуляция лимфоцитов | Результаты в группах | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| | основная (n = 39) | | группа 1 (n = 17) | | группа 2 (n = 20) | |
| | % | абс. ч., $\times 10^9/\text{л}$ | % | абс. ч. $\times 10^9/\text{л}$ | % | абс. ч. $\times 10^9/\text{л}$ |
| CD3 ⁺ | 43 \pm 1,2* | 0,9 \pm 1,1* | 61 \pm 1,3 | 1,6 \pm 1,4 | 61 \pm 1,3 | 1,5 \pm 0,4 |
| CD4 ⁺ | 34 \pm 1,4* | 0,8 \pm 1,4* | 48 \pm 1,4 | 1,3 \pm 2,3 | 48 \pm 1,4 | 1,2 \pm 2,3 |
| CD8 ⁺ | 8 \pm 1,1* | 0,1 \pm 1,2* | 15 \pm 0,6 | 0,4 \pm 1,2 | 13 \pm 0,6* | 0,2 \pm 1,2* |
| CD16 ⁺ | 6 \pm 1,4* | 0,2 \pm 1,1* | 15 \pm 1,4 | 0,5 \pm 1,3 | 15 \pm 1,4 | 0,4 \pm 1,3 |
| CD20 ⁺ | 12 \pm 1,1* | 0,6 \pm 1,4* | 8 \pm 2,1 | 0,3 \pm 1,2 | 10 \pm 2,1* | 0,2 \pm 1,2 |
| CD4 ⁺ / CD8 ⁺ | 0,5 \pm 1,3* | | 1,6 \pm 1,3 | | 1,5 \pm 1,7 | |

Примечание здесь и далее. * – различие с контролем (основная группа) достоверно, $p < 0,05$.

Таблица 2 – Содержание различных субпопуляций лимфоцитов в крови у пациентов основной группы и группы сравнения в отдаленном послеоперационном периоде ($M \pm m$)

| Субпопуляции лимфоцитов | Результаты в группах | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| | основная (n = 39) | | группа 1 (n = 17) | | группа 2 (n = 20) | |
| | % | абс. ч. $\times 10^9/\text{л}$ | % | абс. ч. $\times 10^9/\text{л}$ | % | абс. ч. $\times 10^9/\text{л}$ |
| CD3 ⁺ | 43 \pm 1,2* | 0,9 \pm 1,1* | 61 \pm 1,3 | 1,6 \pm 1,4 | 60 \pm 1,3 | 1,5 \pm 1,4 |
| CD4 ⁺ | 34 \pm 1,4* | 0,8 \pm 1,4* | 48 \pm 1,4 | 1,3 \pm 2,3 | 47 \pm 1,4 | 1,2 \pm 2,3 |
| CD8 ⁺ | 8 \pm 1,1* | 0,1 \pm 1,2* | 15 \pm 0,6 | 0,4 \pm 1,2 | 14 \pm 0,6 | 0,4 \pm 1,2 |
| CD16 ⁺ | 6 \pm 1,4* | 0,2 \pm 1,1* | 15 \pm 1,4 | 0,5 \pm 1,3 | 14 \pm 1,4 | 0,4 \pm 1,3 |
| CD20 ⁺ | 8 \pm 1,1 | 0,3 \pm 1,4* | 8 \pm 2,1 | 0,3 \pm 1,2 | 8 \pm 2,1 | 0,2 \pm 1,2 |
| CD4 ⁺ / CD8 ⁺ | 0,5 \pm 1,3* | | 1,6 \pm 1,3 | | 1,5 \pm 1,7 | |

показателей выполнялось с помощью проточной цитофлюориметрии с моноклональными антителами. CD25-рецептор к ИЛ-2, маркер активации Т- и В-лимфоцитов, CD95- Fas-антиген, HLA-DR-маркер активации Т-лимфоцитов в микроварианте комплементзависимого лимфоцитотоксического теста [5]. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводилось турбидиметрическим методом. Для этого исследования применяли 3,5 %-ный раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 Д (США) в фосфатном буфере (рН 8,4). Результаты учитывали на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 450 нм и выражали в условных единицах. Общее содержание IgG, IgM, IgA – по методу простой радиальной иммунодиффузии по Mancini и соавт., а также IgE, определяемый по методу иммуноферментного анализа (ИФА). Содержание С3-, С4-компонентов комплемента, ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона- γ (ИНФ γ), ИЛ-4, ИЛ-10 в плазме крови определяли с помощью набора реагентов ProCon (ООО “Протеиновый контур” г. Санкт-Петербург в соответствии с инструкциями изготовителя [6].

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови оценивались по фагоцитарному индексу (ФИ) и фагоцитарному

числу (ФЧ) [7]. Активность кислородсодержащих систем нейтрофилов оценивалась по реакции восстановления нитросинего тетразолия спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного (НСТ-ст.) зимозаном [8, 9].

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики медико-биологического профиля. Обработка включала расчет медиан и верхних и нижних квартилей, а также определение достоверности различий (p) с использованием критерия Манна – Уитни для независимых групп и критерия Уилкоксона для зависимых. Для этой цели применяли персональный компьютер с пакетом прикладных программ “Statistica 6.0” и Excel (Microsoft, 2003).

Материалы и их обсуждение. В результате проведенного исследования установлено, что базально-клеточный рак развивается в том случае, когда происходит уменьшение как доли, так и абсолютного числа лимфоцитов, несущих рецепторы CD16⁺ (натуральные киллеры), функцией которых является разрушение собственных клеток организма, которые повреждены или неверно функционируют CD3⁺ (зрелые Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-хелперы), которые регулируют реакции как врожденного, так и приобретенного иммунитета и управляют иммунным ответом, направляя дру-

гие клетки на выполнение этих задач, можно предположить, что уменьшение количества Т-хелперов приводит к снижению цитокинов, которые оказывают влияние на активность многих видов клеток, кроме того, отмечается уменьшение CD8⁺ (цитотоксические Т-клетки), можно предположить, что у пациентов с базально-клеточным раком отмечается снижение регуляции приобретенного иммунитета; кроме того отмечается уменьшение индекса CD4⁺ / CD8⁺. Вместе с тем, регистрируется увеличение количества лимфоцитов, несущих рецепторы CD20⁺ (В-клетки) которые отвечают за гуморальное звено приобретенного иммунитета, т. е. вырабатывают антитела (таблица 1).

В процессе оперативного лечения отмечается нормализация показателей как долевого, так и абсолютного содержания лимфоцитов, несущих рецепторы CD20⁺. Исходя из этого, можно сделать заключение, что оперативное лечение при базально-клеточном раке приводит к восстановлению гуморального звена приобретенного иммунитета (таблица 2).

Таким образом, в развитии базально-клеточного рака значительное внимание отводится формированию иммунного ответа на опухоль как со стороны врожденных (естественные киллеры), так и приобретенных механизмов иммунитета. В группе пациентов с доброкачественными образованиями кожи отмечается изменение лишь некоторых показателей лимфоцитов: снижение как доли, так и абсолютного числа лимфоцитов, несущих рецепторы CD8⁺. При этом отмечается увеличение процентного содержания лимфоцитов, несущих рецепторы CD20⁺. После оперативного лечения у пациентов, оперированных по поводу доброкачественных образований кожи, происходит восстановление всех показателей клеточного иммунитета на 7-е послеоперационные сутки. У пациентов с базально-клеточным раком отмечается восстановление лишь лимфоцитов, несущих рецепторы CD20⁺, остальные показатели не изменяются и остаются сниженными.

В гуморальном звене системы иммунитета в группе пациентов с базально-клеточным раком до начала оперативного лечения зарегистрировано снижение количества IgG, а также общего количества комплемента, его С3- и С4-фракций, ФНО α , ИЛ1 β , ИЛ-6, ИНФ γ , ФИ, ФЧ, СТ-сп., СТ-ст., при этом происходило увеличение количества ЦИК (таблица 3). Можно предположить, что в развитии опухоли значение имеют следующие факторы: IgG, а также общее количество комплемента, его С3- и С4-фракции, ИЛ1 β , ИЛ-6, ФИ, ФЧ, СТ-сп., СТ-ст. Данное предположение подтверждается тем, что в группе пациентов с доброкачественными

ми опухолями данные показатели не изменялись. В ходе исследования мы предполагаем, что гуморальное звено системы иммунитета у пациентов с базально-клеточным раком имеет следующий механизм: снижение провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, интерферона-гамма, что, вероятно, свидетельствует о снижении противовирусной защиты, данное состояние сопровождается уменьшением уровня концентрации IgG и уменьшением спонтанного и стимулированного СТ-теста.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что в группе пациентов с базально-клеточным раком до начала оперативного лечения в показателях гуморального звена иммунитета, активности системы комплемента, содержания цитокинов, параметров фагоцитоза зарегистрировано снижение количества IgG, а также общего количества комплемента, его С3- и С4-фракций, ИЛ-6, ИНФ γ , ФИ, ФЧ, СТ-сп., СТ-ст., при этом происходило увеличение количества ЦИК. Можно предположить, что в развитии опухоли имеют значения следующие факторы: IgG, а также общее количество комплемента, его С3- и С4-фракций, ИЛ1 β , ИЛ-6, ФИ, ФЧ, СТ-сп., СТ-ст., данное предположение подтверждается тем, что в группе пациентов с доброкачественными опухолями данные показатели не изменялись. В ходе исследования мы предполагаем, что гуморальное звено системы иммунитета у пациентов с базально-клеточным раком имеет следующий механизм: снижение провоспалительных цитокинов, ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-6, интерферона-гамма, что, вероятно, свидетельствует о снижении противовирусной защиты, данное состояние может сопровождаться уменьшением уровня концентрации IgG и уменьшением спонтанного и стимулированного СТ-теста. Полученные данные могут оцениваться, как некоторое усиление адаптивного иммунитета при базально-клеточном раке кожи. Данная патология развивается на фоне иммунодефицитного состояния, что подтверждается уменьшением таких показателей, как ФИ, ФЧ, уменьшением количества комплемента, а также снижением фагоцитоза вследствие генерации нейтрофилами крови активных форм кислорода, что может быть проявлением снижения клеточного звена врожденного иммунитета. Выполнение оперативного лечения не приводит к ликвидации иммунодефицитного состояния.

При этом в группе пациентов с доброкачественными опухолями в патогенезе заболевания имеет значение снижение ФНО α , что приводит к снижению интерферона-гамма. При проведении оперативного вмешательства у пациентов с доброкачественными образованиями происходит восстановление данных показателей.

Таблица 3 – Показатели гуморального звена иммунитета, активность показателей системы комплемента, содержание цитокинов, параметры фагоцитоза у пациентов основной группы и группы сравнения до оперативного лечения ($M \pm m$)

| Показатели, единицы измерения | Результаты в группах | | |
|-------------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| | основная (n = 39) | группа 1 (n = 17) | группа 2 (n = 20) |
| IgA, г/л | 1,3 ± 0,2 | 1,2 ± 0,1 | 0,9 ± 0,2 |
| IgG, г/л | 3,3 ± 3,4* | 5,9 ± 3,4 | 6,3 ± 3,4 |
| IgM, г/л | 2,4 ± 1,3 | 2,4 ± 1,3 | 2,4 ± 1,3 |
| IgE, г/л | 1,4 ± 1,3 | 1,4 ± 1,3 | 1,4 ± 1,3 |
| Общее количество комплемента, МЕ/мл | 118 ± 1,4* | 221 ± 2,4 | 221 ± 2,4 |
| C3 – фракция комплемента, г/л | 9,5 ± 1,6* | 12,5 ± 1,6 | 12,5 ± 1,6 |
| C4 – фракция комплемента, г/л | 0,11 ± 0,3* | 0,18 ± 0,4 | 0,17 ± 0,2 |
| C1-инг. нг/мл | 220,4 ± 2,4 | 220,4 ± 2,4 | 220,4 ± 2,4 |
| ЦИК, у. е. | 36 ± 1,8* | 30 ± 1,4 | 32 ± 1,4* |
| ФНО α , пг/мл | 2,69 ± 2,2 | 3,69 ± 2,2 | 2,89 ± 2,2 |
| ИЛ1 β , пг/мл | 3,94 ± 1,2 | 5,94 ± 1,1 | 4,87 ± 1,1 |
| ИЛ-6, пг/мл | 0,32 ± 0,2* | 1,48 ± 0,2 | 1,38 ± 0,2 |
| ИЛ-8, пг/мл | 26,1 ± 1,2 | 26,1 ± 1,2 | 26,1 ± 1,2 |
| ИЛ-4, пг/мл | 0,81 ± 0,1 | 0,87 ± 0,4 | 0,71 ± 0,1 |
| ИЛ-10, пг/мл | 29,8 ± 3,3 | 29,8 ± 3,3 | 29,8 ± 3,3 |
| ИЛ-2, пг/мл | 0,08 ± 0,1 | 0,08 ± 2,1 | 0,07 ± 0,1 |
| ИНФ γ , пг/мл | 2,02 ± 0,4* | 4,02 ± 1,1 | 3,02 ± 1,1* |
| Фактор Н, нг/мл | 32,8 ± 2,3 | 32,8 ± 2,3 | 32,8 ± 2,3 |
| ФИ, % | 44,2 ± 1,1* | 53,2 ± 1,1 | 53,2 ± 1,1 |
| ФЧ, абс. ч. | 3,12 ± 0,1* | 5,81 ± 0,1 | 5,81 ± 0,1 |
| НСТ-сп., % | 23,1 ± 1,2* | 25,1 ± 1,2 | 25,1 ± 1,2 |
| НСТ-ст., % | 25,4 ± 1,3* | 31,4 ± 1,3 | 31,4 ± 1,3 |

Примечание. * – различие с контролем (основная группа) достоверно, $p < 0,05$.

При проведении оперативного вмешательства у пациентов с доброкачественными образованиями происходит восстановление данных показателей. Кроме того, отмечается повышенное содержание Fas-антиген-положительных клеток (таблица 4).

Таблица 4 – Содержание лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген (CD95) ($M \pm m$)

| Послеоперационные сутки | Доля CD95 в группах, % | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| | основная (n = 39) | группа 1 (n = 17) | группа 2 (n = 20) |
| 1 | 18,6 ± 0,6* | 13,8 ± 0,6 | 14,3 ± 0,6 |
| 5 | 17,4 ± 0,6* | 13,8 ± 0,6 | 13,6 ± 0,4 |
| 7 | 17,4 ± 0,6* | 13,8 ± 0,6 | 13,6 ± 0,4 |
| 10 | 17,4 ± 0,6* | 13,8 ± 0,6 | 13,6 ± 0,4 |

Это может быть обусловлено нарушением соотношения Fas-антиген/Fas-лиганд, так как установлено, что Fas-лиганд конститутивно экспрессируется на иммунокомпетентных клетках [10]. Повышение Fas-антиген-положительных клеток может привести к потенциальной готовности последних к реализации апоптоза и, в конечном счете,

может вызвать увеличение количества активированных иммунокомпетентных клеток. Все это способствует развитию онкологического заболевания, поскольку известно, что эффекторные и регуляторные функции иммунной системы опосредованы молекулами цитокинов [5, 11], являющихся продуктами иммунокомпетентных клеток, и в то же время сами иммунокомпетентные клетки служат мишенями действия цитокинов. Регуляторные эффекты цитокиновой сети построены на равновесии оппозитных пулов молекул, нарушение которого, по всей видимости, может приводить к патологии [12].

Выводы

1. Базально-клеточный рак кожи развивается в том случае, когда происходит уменьшение как доли, так и абсолютного числа лимфоцитов, несущих рецепторы CD16+, CD3+, CD4+. Вместе с тем регистрируется увеличение количества лимфоцитов, несущих рецепторы CD20+. Все показатели субпопуляций лимфоцитов в крови снижаются на 5-е послеоперационные сутки и частично восстанавливаются на 10-е послеоперационные сутки, когда отмечается нормализация

значений как относительного, так и абсолютно-го содержания лимфоцитов, несущих рецепторы CD20+.

2. Изменения в гуморальном звене иммунитета, активности показателей системы комплемента, содержания цитокинов в группе пациентов с базально-клеточным раком имеют следующий механизм: снижение провоспалительных цитокинов: ИЛ-6, ИНФ γ , что свидетельствует о снижении противовирусной защиты. Такое состояние сопровождается уменьшением уровня концентрации IgG и уменьшением спонтанного и стимулированного СТ-теста. Данная патология развивается на фоне иммунодефицитного состояния, что подтверждается уменьшением таких показателей, как ФИ, ФЧ, уменьшением количества комплемента. Частичное восстановление исследуемых показателей происходит на 7-е и 10-е послеоперационные сутки, когда восстанавливаются ЦИК и НСТ-сп., а на 10-е – НСТст., кроме того, частично восстанавливается уровень IgG, однако выполнение оперативного лечения не приводит к ликвидации иммунодефицитного состояния.

Литература

1. Гармонов А.А. Метаболические и иммунные нарушения у больных базально-клеточным раком кожи и их лечение с помощью радиоволновой хирургии и интерферона / А.А. Гармонов, В.В. Дубенский // Рос. журн. кожных и вен. болезней. 2003. № 3. С. 8–12.
2. Молочков В.А. Особенности клиники и течения опухолей кожи при иммуносупрессии / В.А. Молочков, Е.А. Прокопенко, Е.М. Лезвинская и др. // Рос. журн. кожных и вен. болезней. 1999. № 6. С. 4–9.
3. Юцковский А.Д. Случай педжетоидной базалиомы / А.Д. Юцковский, Е.Б. Федорова, Э.Н. Мельник // Рос. журн. кожных и вен. болезней. 1998. № 4. С. 21–22.
4. Пискалова Т.П. Характеристика иммунного статуса больных базально-клеточным раком кожи / Т.П. Пискалова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2004. № 3. С. 33–36.
5. Тотолян А.А. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека / А.А. Тотолян, И.А. Балдуева, Л.Н. Бубнова и др. // Мед. иммунология. 1999. Т. 1. № 5. С. 21–43.
6. Караулов А.В. Клиническая иммунология / А.В. Караулов. М.: Медицина, 2008. 602 с.
7. Медведев А.Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза / А.Н. Медведев // Лабораторное дело. 1991. № 2. С. 19–20.
8. Виксман М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия / М.Е. Виксман, А.Н. Маянский. Казань, 1979. 15 с.
9. Щербаков В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам / В.И. Щербаков // Лабораторное дело. 1989. № 1. С. 30–33.
10. Потаннев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М.П. Потаннев // Иммунология. 2002. № 4. С. 237–243.
11. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1. № 1. С. 9–17.
12. Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы: учебное пособие / И.С. Фрейдлин, А.А. Тотолян. М.: Наука, 2001. 223 с.