

УДК: 616.33-006.6:612.017.1

## ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

А.А. Савченко<sup>1</sup>, Ю.А. Дыхно<sup>2</sup>, Н.Н. Казакова<sup>2</sup>, М.В. Яцинов<sup>2</sup>

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН<sup>1</sup>, г. Красноярск  
ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет Росздрава  
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»<sup>2</sup>  
660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г, e-mail: aasavchenko@yandex.ru<sup>1</sup>*

Представлены результаты исследования состояния иммунного статуса у больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции. Концентрацию иммуноглобулинов определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Содержание ЦИК определяли турбидиметрическим методом. Установлено, что у больных раком желудка II, III и IV стадий заболевания выявляется снижение относительного уровня общих Т-лимфоцитов и CD4<sup>+</sup>-клеток, при повышении содержания НК-клеток на всех наблюдаемых стадиях заболевания и увеличение количества цитотоксических Т-лимфоцитов при раке желудка III и IV стадий. Реакция гуморального иммунитета характеризуется только снижением концентрации Ig G в сыворотке крови больных на всех исследуемых стадиях заболевания. Повышенный уровень ЦИК может определяться пониженной реактивностью фагоцитирующих клеток.

Ключевые слова: рак желудка, иммунный статус.

IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER DEPENDING ON THE DISEASE STAGE

A.A. Savchenko<sup>1</sup>, Yu.A. Dichno<sup>2</sup>, N.N. Kazakova<sup>2</sup>, M.V. Yatsinov<sup>2</sup>  
*Institute for Medical Problems of the North, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Krasnoyarsk<sup>1</sup>  
Krasnoyarsk State Medical University<sup>2</sup>  
3g, Zheleznyak Street, Krasnoyarsk-660022, e-mail: aasavchenko@yandex.ru<sup>1</sup>*

Investigation results of immune status state in gastric cancer patients depending on the disease stage were presented. Population and subpopulation compositions of blood lymphocytes were assessed by indirect immunofluorescence method. Concentration of immunoglobulins was determined by immunodiffusion assay (Mancini's method). The circulating immune complexes (CIC) were determined by the turbidimetric method. Reduction in the relative level of T-lymphocytes and CD4<sup>+</sup>-cells and increase in the level of natural killer cells were observed in patients with stage II, III and IV gastric cancer and increase in the level of cytotoxic T-lymphocytes was found in patients with III and IV stages. Humoral immunity response was characterized by only decrease in Ig G concentration in blood serum of patients at all investigated stages of the disease. The increased CIC level can be determined by the reduced reactivity of phagocytic cells.

Key words: gastric cancer, immune status.

Рак желудка в России среди онкологических заболеваний занимает второе место после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин [3, 6, 7]. Рост опухоли сопровождается изменением активности функционального состояния иммунной системы [4, 14]. Предполагается, что опухоль за счет синтеза различных регуляторных веществ индуцирует иммуносупрессию, что, в частности, приводит

к неэффективности противоопухолевой иммунотерапии [10].

**Цель исследования** – изучить состояние иммунного статуса больных раком желудка в зависимости от стадии развития опухоли.

### Материал и методы

На базе Красноярского онкологического диспансера обследовано 56 больных раком желудка,

в возрасте 32–64 лет. Диагностика основывалась на данных анамнеза, клинико-инструментальных, лабораторных, морфологических методов исследования. Стадия заболевания уточнялась после оперативного лечения и окончательного морфологического исследования опухоли. Кровь на исследование забирали из кубитальной вены на следующий день после поступления. В качестве контроля обследовано 106 здоровых людей аналогичного возраста.

Выделение общей фракции лимфоцитов осуществляли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-верографина с последующей очисткой от прилипающих клеток. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR и CD72. Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный

(CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) и индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup>/CD72<sup>+</sup>). Концентрацию иммуноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза Ig A (Ig A/CD72<sup>+</sup>), Ig M (Ig M/CD72<sup>+</sup>) и Ig G (Ig G/CD72<sup>+</sup>) [2].

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C<sub>25</sub> и C<sub>75</sub>). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

### Результаты и обсуждение

При исследовании получен результат состояния Т-клеточного звена иммунной системы

Таблица 1

### Состояние Т-клеточного звена иммунной системы у больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Показатели	Контроль (n=106)		Больные раком желудка					
			II стадия (n=14)		III стадия (n=24)		IV стадия (n=17)	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	5,75	4,80–7,75	6,38	3,75–9,60	6,19	4,13–7,63	6,00	5,00–7,00
Лимфоциты, %	38,0	31,0–45,0	51,5	34,0–59,0	43,0	33,0–50,0	36,0	31,0–52,0
			p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,05			
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	2,17	1,62–2,90	3,10	1,30–4,43	2,65	1,65–3,55	2,10	1,26–3,24
CD3 <sup>+</sup> , %	66,0	59,0–72,0	47,5	43,0–52,0	53,0	49,0–61,0	46,0	40,0–55,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>3</sub> <0,01
CD3 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	1,38	0,99–1,88	2,07	1,42–2,74	3,16	1,26–3,34	2,31	1,33–2,98
			p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,05	p <sub>1</sub> <0,01	
CD4 <sup>+</sup> , %	43,0	34,0–49,0	23,5	17,5–28,0	32,0	26,0–34,0	26,0	20,0–31,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>3</sub> <0,05
CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,84	0,54–1,27	1,03	0,49–1,46	1,76	1,22–2,01	1,23	0,95–1,64
					p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,05	p <sub>1</sub> <0,05	
CD8 <sup>+</sup> , %	27,0	20,0–33,0	22,5	18,0–26,0	26,0	23,0–31,0	23,0	20,0–28,0
CD8 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,57	0,38–0,89	0,86	0,64–1,40	1,40	0,68–1,76	1,16	0,61–1,46
					p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,01	

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой; p<sub>2</sub> – по сравнению с группой больных со II стадией заболевания; p<sub>3</sub> – по сравнению с группой больных с III стадией заболевания.

Таблица 2

**Содержание CD16<sup>+</sup>- и HLA-DR<sup>+</sup>-клеток и уровни коэффициентов, характеризующих состояние иммунного статуса, у больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания**

Показатели	Контроль (n=106)		Больные раком желудка					
			II стадия (n=14)		III стадия (n=24)		IV стадия (n=17)	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
CD16 <sup>+</sup> , %	21,0	17,0–24,0	27,0	25,0–31,0	30,0	24,0–32,0	30,0	22,0–35,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
CD16 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,47	0,32–0,68	1,03	0,61–1,88	1,58	0,72–1,82	1,28	1,07–1,88
			p <sub>1</sub> <0,01		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
HLA-DR <sup>+</sup> , %	18,0	13,0–22,0	33,0	32,0–48,0	27,0	24,0–29,5	30,0	23,5–35,5
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
HLA-DR <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,38	0,26–0,57	2,01	1,58–2,92	1,64	1,29–1,79	1,64	0,80–2,16
			p <sub>1</sub> <0,01		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
HLA-DR <sup>+</sup> /CD72 <sup>+</sup>	1,23	1,00–1,47	1,33	1,22–1,78	1,42	1,18–1,90	1,11	1,00–1,79
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,51	1,12–1,93	1,08	0,64–2,27	1,22	0,87–1,43	1,18	0,78–1,79

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой; p<sub>2</sub> – по сравнению с группой больных со II стадией заболевания; p<sub>3</sub> – по сравнению с группой больных с III стадией заболевания.

у больных раком желудка (РЖ) в зависимости от стадии заболевания. Установлено, что процентное содержание лимфоцитов у больных раком желудка II и III стадии достоверно выше, чем у лиц контрольной группы (табл. 1). В то же время у больных с IV стадией заболевания процентный уровень лимфоцитов снижается до диапазона нормы. Независимо от стадии заболевания у больных в периферической крови статистически достоверно снижено относительное содержание и повышено абсолютное количество CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов. При этом максимальное содержание Т-лимфоцитов выявлено у больных раком желудка III стадии. Также независимо от стадии процесса в периферической крови больных снижено относительное количество CD4<sup>+</sup>-клеток. В то же время максимальный процентный уровень данной субпопуляции Т-лимфоцитов обнаружен у лиц с III стадией заболевания. Следует отметить, что при РЖ III и IV стадии выявлено статистически достоверное повышение абсолютного содержания CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов. Независимо от стадии заболевания у больных раком желудка в периферической крови наблюдалось повышение относительного и абсолютного содержания CD16<sup>+</sup>- и HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов (табл. 2).

Относительное и абсолютное количество CD72<sup>+</sup>-лимфоцитов независимо от стадии патологического процесса достоверно выше у больных РЖ относительно величин аналогичных показателей контрольной группы (табл. 3). Выявляются значительные изменения и в состоянии гуморального иммунитета. Так, при II, III и IV стадиях заболевания у обследуемых лиц снижается концентрация Ig G и повышается уровень ЦИК. При этом уровни относительного синтеза иммуноглобулинов у больных снижены. Причем установлено, что уровни относительного синтеза Ig A и G понижены независимо от стадии заболевания, тогда как уровень относительного синтеза Ig M снижен у больных раком желудка III и IV стадий.

В целом, результаты исследования состояния иммунного статуса позволяют заключить, что у больных РЖ наблюдаются изменения как со стороны клеточного звена иммунитета, так и гуморального. Состояние Т-клеточного звена характеризуется снижением относительного количества Т-лимфоцитов, но при повышении их абсолютного содержания, что определяется повышением процентного уровня общих лимфоцитов в периферической крови у больных раком желудка II и III стадией. Несмотря на

**Уровень В-лимфоцитов и состояние гуморального иммунитета у больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания**

Показатели	Контроль (n=106)		Больные раком желудка					
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	II стадия (n=14)		III стадия (n=24)		IV стадия (n=17)	
			Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
CD72 <sup>+</sup> , %	14,0	10,0–17,0	24,0	21,0–27,0	19,0	18,0–21,0	22,5	17,0–27,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	p <sub>2</sub> <0,01	p <sub>1</sub> <0,001	
CD72 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,31	0,19–0,42	0,99	0,50–1,64	0,88	0,49–1,22	0,93	0,70–1,46
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
Ig A, г/л	1,95	1,34–3,20	1,96	1,22–3,11	2,27	1,91–9,71	2,13	1,79–2,94
Ig M, г/л	1,19	0,56–1,80	0,95	0,53–1,77	1,21	0,76–1,77	1,29	0,68–1,81
Ig G, г/л	10,25	8,00–14,00	6,82	4,13–8,22	5,58	4,89–6,74	5,79	4,89–6,47
			p <sub>1</sub> <0,01		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
Ig A/CD72 <sup>+</sup> , нг/клетку	6,13	3,51–11,91	1,42	1,15–4,00	2,02	1,58–8,45	2,12	1,33–3,26
			p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,001	
Ig M/CD72 <sup>+</sup> , нг/клетку	3,36	1,41–9,14	0,78	0,43–2,98	1,18	0,83–1,92	1,24	0,54–3,11
					p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,05	
Ig G/CD72 <sup>+</sup> , нг/клетку	34,51	21,15–55,81	4,67	3,98–12,99	5,38	3,33–6,87	5,73	3,35–6,99
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
ЦИК, о.е.	6,00	4,50–13,50	41,25	23,25–47,25	13,50	7,50–21,00	16,75	15,00–27,00
			P <sub>1</sub> <0,01		p <sub>2</sub> <0,05		p <sub>1</sub> <0,01	

Примечание: p<sub>1</sub> – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой; p<sub>2</sub> – по сравнению с группой больных со II стадией заболевания; p<sub>3</sub> – по сравнению с группой больных с III стадией заболевания.

то, что снижение процентного содержания Т-лимфоцитов совпадает с понижением относительного уровня CD4<sup>+</sup>-субпопуляции, величина иммунорегуляторного индекса у больных раком желудка на обследуемом диапазоне заболевания не изменяется. Причем при III и IV стадиях заболевания также выявляется увеличение абсолютного содержания в периферической крови цитотоксических Т-лимфоцитов. Известно, что данная субпопуляция Т-лимфоцитов принимает участие в системе противоопухолевого ответа. Другой фракцией лимфоцитов, также играющей роль в противоопухолевом иммунитете, являются НК-клетки [5, 15]. Данная популяция лимфоцитов способна лизировать определенные опухолевые клетки-мишени без предварительного контакта и развития реакции типа иммунного ответа. Установлено, что у больных раком желудка II, III и IV стадий в периферической крови повышается относительное и абсолютное содержание НК-клеток. Можно предположить, что увеличение количества цитотоксических

Т-лимфоцитов и НК-клеток является компенсаторной реакцией, направленной на стимуляцию противоопухолевой иммунореактивности.

Известно, что HLA-DR-рецептор экспрессируется на поверхности В-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов [11, 12]. В связи с этим мы вычисляли индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup>/CD72<sup>+</sup>), который позволяет определить популяцию клеток, экспрессирующую HLA-DR-маркер. Так как индекс активации Т-лимфоцитов у больных РЖ не изменяется относительно контрольных величин, можно заключить, что повышение количества клеток с HLA-DR-рецептором связано только с В-лимфоцитами. Действительно, независимо от стадии рака желудка выявляется повышение процентного и абсолютного количества В-лимфоцитов. Однако, исходя из сниженных уровней относительного синтеза иммуноглобулинов, можно предположить, что увеличение количества В-лимфоцитов в периферической крови у больных идет за счет фракции клеток

со сниженной функциональной активностью. По-видимому, снижение сывороточной концентрации Ig G и отсутствие каких-либо изменений в уровнях Ig A и Ig M также связано со сниженной активностью В-лимфоцитов. Безусловно, регуляция синтеза Ig G связана с механизмами тимусзависимого иммунитета. Однако либо нарушения в системе регуляции, либо поломка физиологических процессов в самих В-лимфоцитах и определяет снижение их функциональных свойств. Необходимо отметить, что в ряде исследований отмечается опухолестимулирующая роль гуморального иммунитета [1, 5, 9]. Сформулирована концепция «блокирующих антител», согласно которой противоопухолевые антитела при отсутствии цитотоксического эффекта блокируют действие цитотоксических Т-лимфоцитов. Независимое от стадии заболевания повышение содержания ЦИК в сыворотке крови может быть связано с недостаточной реактивностью фагоцитирующих клеток. Известно, что макрофаги и нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками в утилизации иммунных комплексов из периферической крови [5, 8].

Таким образом, у больных раком желудка II, III и IV стадий заболевания выявляется снижение относительного содержания общих Т-лимфоцитов и CD4<sup>+</sup>-клеток. В то же время в иммунном статусе больных выявляются и компенсаторные процессы, характеризующие активацию противоопухолевого иммунитета: повышение содержания НК-клеток на всех наблюдаемых стадиях заболевания и увеличение количества цитотоксических Т-лимфоцитов при РЖ III и IV стадий. Повышенный уровень В-лимфоцитов в периферической крови больных раком желудка не зависит от стадии заболевания и определяется функционально незрелыми клетками. Реакция гуморального иммунитета характеризуется только снижением концентрации Ig G в сыворотке крови больных на всех исследуемых стадиях заболевания. По-

вышенный уровень ЦИК может определяться пониженной реактивностью фагоцитирующих клеток. Следовательно, при разработке методов иммунотерапии необходимо учитывать, что при наличии иммунодефицитного состояния у больных раком желудка в целом тем не менее могут развиваться реакции противоопухолевого иммунитета.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Барышников А.Ю. Взаимоотношения опухоли и иммунной системы организма // Практическая онкология. 2003. Т. 4, № 3. С. 127–130.
2. Земсков А.М., Земсков В.М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса // Клиническая и лабораторная диагностика. 1994. № 3. С. 34–35.
3. Мерабишвили В.М. Выживаемость онкологических больных. СПб.: ООО «Фирма КОСТА», 2006. 440 с.
4. Савченко А.А., Лапешин П.В., Дыхно Ю.А. Особенности состояния иммунного статуса и активность метаболических ферментов лимфоцитов крови в зависимости от стадии рака легкого // Российский биотерапевтический журнал. 2004. Т. 3, № 3. С. 19–23.
5. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 608 с.
6. Ahmedin J., Murray T., Ward E. et al. Cancer statistics, 2005 // CA Cancer J. Clin. 2005. Vol. 55. P. 10–30.
7. Archie V., Kauh J., Jones D.V. et al. Gastric cancer: standards for the 21<sup>st</sup> century // Crit. Rev. Oncol./Hematol. 2006. Vol. 57. P. 123–131.
8. Jakus Z., Németh T., Verbeek J.S., Mócsai A. Critical out overlapping role of FcγRIII and FcγRIV in activation of murine neutrophils by immobilized immune complexes // J. Immunol. 2008. Vol. 180 (1). P. 618–629.
9. Jhanwar Y.S., Divgi C. Current status of therapy of solid tumors // J. Nucl. Med. 2005. Vol. 46, Suppl. 1. P. 141S–150S.
10. Joffroy C.M., Buck M.B., Stope M.B. et al. Antiestrogens induce transforming growth factor beta-mediated immunosuppression in breast cancer // Cancer Res. 2010. Vol. 70 (4). P. 1314–1322.
11. Litzman J., Vlková M., Píkulová Z. et al. T and B lymphocyte subpopulations and activation/differentiation markers in patients with selective IgA deficiency // Clin. Exp. Immunol. 2007. Vol. 147 (2). P. 249–254.
12. Nakamura H., Idiris A., Kato Y., Kato H. An increase in the percentage of HLA-DR-positive peripheral leukocytes predicts a poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma of the lung // Oncol. Rep. 2004. Vol. 11 (3). P. 673–676.
13. Suzuki H., Chikazawa N., Tasaka T. et al. Intratumoral CD8(+) T/FOXP3 (+) cell ratio is a predictive marker for survival in patients with colorectal cancer // Cancer Immunol. Immunother. 2010. Vol. 59, № 5. P. 653–661.
14. Yaqub S., Aandahl E.M. Inflammation versus adaptive immunity in cancer pathogenesis // Crit. Rev. Oncog. 2009. Vol. 15 (1–2). P. 43–63.
15. Zama L., Ponti C., Mirandola P. et al. NK cells and cancer // J. Immunol. 2007. Vol. 178. P. 4011–4016.

Поступила 12.03.10