

Д.Ю. Мельников^{1,2}, И.В. Пушина^{3,4}, Ю.Г. Лагерева⁵, Я.Б. Бейкин⁵, И.Ю. Иванова²

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО И ЛЮМИНАЛЬНОГО А РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Екатеринбург,

² ГБОУ СПО Свердловский областной медицинский колледж, Екатеринбург,

³ Клиника «Здоровье 365», Екатеринбург,

⁴ Клинико-диагностический центр лабораторной диагностики, Екатеринбург,

⁵ ФГУЗ ЦМСЧ-31 ФМБА России, Новоуральск

Исследования последних лет полностью изменили представление о течении злокачественных заболеваний, в частности рака молочной железы (РМЖ). Для практической онкологии важным стало дополнение к общепринятой клинко-морфологической классификации TNM представлением о четырех молекулярно-биологических подтипах РМЖ. Генетическая классификация включила в себя разнообразные варианты заболевания: от люминального А (ЛА), люминального В до трижды негативного (ТН). Абсолютно новый виток исследований биологической активности РМЖ изменил не только клинические представления о процессе активного метастазирования или его длительного латентного существования в организме, но и тактику лечения, основанную на результатах 10-летней общей и безрецидивной выживаемости.

Люминальный А и ТН-вариант РМЖ полярны по многим параметрам. Так, ранний ЛА тип РМЖ с низким риском рецидивирования (Score <18) «подчинен» гормональной системе с предположительно сохраненным иммунологическим звеном гомеостаза на системном уровне. Стандарт лечения раннего ЛА типа сводится к операции и последовательной гормональной терапии, так как применение химиотерапии снижает отдаленные результаты из-за ее токсичности, особенно в группе низкого риска.

ТН-вариант РМЖ автономен от гормонального влияния и, не исключено, обладает высокой иммуногенностью. Пациентки с таким вариантом заболевания получают лечение длительно в виде различных схем химиотерапии, вплоть до режимов с уплотнением доз цитостатиков. Высокий риск рецидивирования ТН раннего РМЖ зависит от воздействия ростовых факторов и микроокружения.

При ЛА и ТН-вариантах рака взаимоотношения между организмом и иммунной системой, как можно предполагать, различны. Логично допустить, что чем меньше риск рецидива ЛА типа, тем меньше нарушения иммунной системы. При ТН РМЖ после химиотерапии на протяжении 6—12 мес подавленность иммунной

системы становится наибольшей как за счет выбранных доз самих цитостатиков, так и за счет автономности опухолевой ткани. Изучение иммуногенности РМЖ и иммунного гомеостаза в таком случае становится важным направлением для адекватного подбора доз, видов препаратов, продолжительности их применения и своевременной коррекции токсических иммунологических повреждений. Современный спектр иммунологической токсичности определяется гуморальным, клеточным звеном иммунитета и реакциями цитокинов.

Цель исследования — сравнить системные параметры иммунного гомеостаза с представлениями о течении генетически подтвержденного ЛА и трижды негативного варианта РМЖ.

Исследование проводилось в период с 2009 по 2013 гг. на базе кафедры онкологии и медицинской радиологии УГМА, МСЧ № 31 г. Новоуральска, отделения онкологии многопрофильной клиники «Здоровье 365». В исследование включена 31 пациентка с подтвержденным диагнозом РМЖ (pT₁₋₄N₀₋₃M₀). I группу (n=16) составили пациентки с люминальным А, IIa-группу (n=9) и IIb-группу (n=6) — с трижды негативным вариантом. Средний возраст больных в I группе составил 51,3±10,5; во IIa — 47,9±11,8; во IIb — 60,3±12,3 лет. Пациентки IIb-группы не получали химиотерапии (тяжелая соматическая патология, отказ от химиотерапевтического лечения); остальные, получавшие химиотерапию, вошли во IIa-группу. Медиана наблюдения составила 36 мес. За период наблюдения 4 пациентки перешли в разряд метастатических с селективным поражением печени, легких, костей или с их одновременным поражением. Все больные были пролечены согласно рекомендациям Санкт-Галлена 2009 г.

Пациенткам проведено стандартное клинко-лабораторное обследование. Дополнительно изучено иммунологическое звено гомеостаза по параметрам лейкоцитов, лимфоцитов, количества CD19, CD20, CD4+, CD8+, NK, с расчетом средних величин M±m, статистической достоверности t и p. Исследование иммунологического звена гомео-

стаза проводилось в Клинико-диагностическом центре лабораторной диагностики г. Екатеринбурга. Интерпретация глубины иммунологических повреждений и токсичности лекарственной терапии проводилась по интегральным критериям классификации Д. Мейл [2]. В соответствии с ней, избирательный иммунодефицит (ИИД)—это снижение количества иммуноглобулинов различных классов или повышение иммуноглобулина М. Общий вариабельный иммунодефицит (ОВИД)—это снижение В-лимфоцитов ниже $0,2 \cdot 10^9$ л в сочетании с указанным выше. Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД)—это дополнительное снижение Т-лимфоцитов-хелперов ниже $0,5 \cdot 10^9$ л. [6].

Реакция цитокинов оценивалась по коэффициентам реакций для каждого цитокина (TNF- α , IL-2, IFN- γ) на момент начала терапии рака и в динамике через 12 мес после перехода в группу реабилитации. Расчет коэффициентов реакций (Кр) цитокинов проводился по формуле ($Kp = nCD3 + \text{стим} / nCD3 + \text{спонт}$) в различных субпопуляциях CD3+, синтезирующих TNF- α , IL-2, IFN- γ спонтанно и стимулированно в тест-системах. Состояние гиперреактивности определено $Kp > 100$ Ед. Статистический анализ проводился по расчету средних величин $M \pm m$, показателей достоверности t и p и 95% доверительным интервалом.

По полученным данным (табл. 1), в иммунограмме показатели лейкоцитов у пациенток Па-группы несколько выше, чем в группе I ($5,1 \pm 0,77 \cdot 10^9$ л и $4,43 \pm 1,56 \cdot 10^9$ л). Подобная тенденция наблюдается и при сравнении лимфоцитов и гранулоцитов, а также в показателях В- и Т-лимфоцитов. В представленной таблице данная закономерность нарушена; это не парадокс или ошибка—это доказательство разобщенности иммунной системы и опухоли у пациенток при ТН РМЖ. В наших предыдущих публикациях было отмечено, что на фоне ПХТ за счет иммуносупрессии возникает иммунодефицитное состояние различной тяжести—от ИИД до ТКИД [3, 9]. В обеих исследуемых группах сформирован ТКИД: в одном случае—медленно растущей опухолью в организме, в другом—ПХТ-лечением. При сравнении показателей различия не достоверны, но по средним данным частота выявления ТКИД при ЛА-подтипе ниже, чем при ТН РМЖ.

Пациентки с ТН РМЖ без ПХТ повторяют по сценарию ТН с ПХТ в сравнении с группой ЛА (табл. 2). Показатели лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов, а также всех Т- и В-лимфоцитов при ТН РМЖ, выше, чем при ЛА. В среднем, при ЛА РМЖ сформирован ТКИД в 68,7% случаев, а при ТН без применения ПХТ ОВИД в 66,7%. Исключение составляют НК-клетки, ко-

Таблица 1

Сравнительный анализ иммунограмм при ЛА и ТН РМЖ

Показатель	ТН с ПХТ (n=9)	ЛА (n=16)	Т	Р
Лейкоциты, 10^9 л	$5,1 \pm 0,77$	$4,43 \pm 1,56$	1,45	0,16
Лимфоциты, 10^9 л	$1,43 \pm 0,54$	$1,20 \pm 0,51$	1,02	0,32
Гранулоциты, 10^9 л	$3,40 \pm 0,68$	$2,96 \pm 1,2$	1,16	0,26
CD-20, 10^9 л	$0,13 \pm 0,11$	$0,12 \pm 0,09$	0,27	0,79
CD3, 10^9 л	$1,01 \pm 0,47$	$0,85 \pm 0,41$	0,85	0,40
CD4, 10^9 л	$0,48 \pm 0,29$	$0,47 \pm 0,28$	0,08	0,94
CD8, 10^9 л	$0,48 \pm 0,24$	$0,33 \pm 0,15$	1,65	0,11
CD16, 10^9 л	$0,24 \pm 0,14$	$0,21 \pm 0,16$	0,55	0,59
Уд. вес ОВИД, %	11,1% (n=1)	31,3% (n=5)	-	-
Уд. вес ТКИД, %	77,8% (n=7)	68,7% (n=11)	-	-

Таблица 2

Сравнительный анализ иммунограмм при ЛА и ТН РМЖ без ПХТ

Показатель	ТН без ПХТ (n=6)	ЛА (n=16)	Т	Р
Лейкоциты, 10^9 л	$5,82 \pm 1,35$	$4,42 \pm 1,56$	2,05	0,05*
Лимфоциты, 10^9 л	$1,57 \pm 0,22$	$1,2 \pm 0,51$	2,35	0,02*
Гранулоциты, 10^9 л	$3,93 \pm 1,26$	$2,96 \pm 1,2$	1,63	0,11
CD-20, 10^9 л	$0,15 \pm 0,1$	$0,12 \pm 0,11$	0,72	0,47
CD3, 10^9 л	$1,21 \pm 0,11$	$0,85 \pm 0,41$	3,18	0,004*
CD4, 10^9 л	$0,68 \pm 0,11$	$0,47 \pm 0,28$	2,47	0,02*
CD8, 10^9 л	$0,5 \pm 0,16$	$0,33 \pm 0,15$	2,33	0,03*
CD16, 10^9 л	$0,19 \pm 0,13$	$0,21 \pm 0,16$	0,37	0,71
Уд. вес ОВИД, %	66,7% (n=4)	31,3% (n=5)		
Уд. вес ТКИД, %	-	68,7% (n=11)		

*Примечание: p-статистическая достоверность $\leq 0,05$.

личество которых при ТН РМЖ снижается, что косвенно свидетельствует о начале истощения резервных возможностей и возможном переходе ОВИД в ТКИД. Показатели достоверны для лейкоцитов, лимфоцитов, CD3+, CD4+, CD8+.

При сравнении группы ТН РМЖ с использованием ПХТ и без нее (табл. 3) достоверных различий по показателям иммунограммы получено не было. Обращает на себя внимание, что на фоне ПХТ имеется тенденция ($p = 0,08$) к снижению CD4+ менее $0,5 \cdot 10^9$ л, что формирует ТКИД у 77,8% больных (n=7).

При сравнении показателей содержания цитокинов в сыворотке крови у пациенток I, Па и Пб-групп (табл. 4) к моменту окончания 1-го года терапии ЛА и ТН РМЖ заметно, что адъ-

Таблица 3

Сравнительный анализ иммунограмм при ТН РМЖ с ПХТ и без

Показатель	ТН с ПХТ (n=9)	ТН без ПХТ (n=6)	T	P
Лейкоциты, 10 ⁹ л	5,1±0,77	5,82±1,35	1,17	0,26
Лимфоциты, 10 ⁹ л	1,43±0,54	1,57±0,22	0,71	0,48
Гранулоциты, 10 ⁹ л	3,40±0,68	3,93±1,26	0,95	0,35
CD-20, 10 ⁹ л	0,13±0,11	0,15±0,1	0,43	0,66
CD3, 10 ⁹ л	1,01±0,47	1,21±0,11	1,18	0,25
CD4, 10 ⁹ л	0,48±0,29	0,68±0,11	1,85	0,08**
CD8, 10 ⁹ л	0,48±0,24	0,5±0,16	0,20	0,84
CD16, 10 ⁹ л	0,24±0,14	0,19±0,13	0,83	0,41
Уд. вес ОБИД, %	11,1% (n=1)	66,7% (n=4)		
Уд. вес ТКИД, %	77,8% (n=7)	-		

* Примечание: p-статистическая достоверность $\geq 0,05$.

Таблица 4

Сравнение реактивности цитокинов в группах ЛА и ТН подтипов РМЖ

Показатель	M	σ	M	σ	T	P
	I группа (n=16)		IIa группа (n=9)			
TNF- α	56,8	73,04	82,3	64,36	0,81	0,42
IL-2	38,9	27,53	48,9	39,40	0,59	0,56
IFN- γ	36,9	27,79	174,7	41,77	7,77	0,000001*
	I группа (n=16)		IIb группа (n=6)			
TNF- α	56,8	73,04	107,6	35,61	1,92	0,07**
IL-2	38,9	27,53	36,8	14,28	0,19	0,85
IFN- γ	36,9	27,79	56,2	39,88	0,89	0,38
	IIb группа (n=6)		IIa группа (n=9)			
TNF- α	107,6	35,61	82,3	64,36	0,84	0,42
IL-2	36,8	14,28	48,9	39,40	0,73	0,48
IFN- γ	56,2	39,88	174,7	41,77	4,66	0,001*

*Примечание: p — статистическая достоверность $\leq 0,05$.

** p — статистическая достоверность $\geq 0,05$.

ювантное гормональное и химиотерапевтическое лечение формирует в организме различные типы провоспалительных ответов. У пациенток с гормонально-зависимым ЛА типом РМЖ отмечается тенденция к успешному вовлечению TNF- α . ТН РМЖ характеризуется достоверным моделированием в организме провоспалительного ответа по реакции IFN- γ на CD3+. Типичным представляется проявление нормореактивности для ЛА РМЖ и гиперреактивности для

ТН РМЖ. В случаях избирательного метастазирования в печень у больных ЛА РМЖ отмечено повышение уровня TNF- α в двух случаях. В одном случае избирательного метастатического поражения кожи грудной клетки и лимфангита легкого выявлена комбинированная активация системы TNF- α и IL-2 у больных ТН РМЖ.

Выводы

Больные ЛА и ТН РМЖ после проведенного лечения различаются своим иммунологическим статусом.

Различия в системе иммунологического гомеостаза и реактивности цитокинов могут быть основой оценки рисков избирательного вида метастазирования при раке молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунология инфекционного процесса / Руководство для врачей под ред. В.И. Покровского, С.П. Гордиенко, В.И. Литвинова. — М., 1993. — 306 с.
2. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройтт А. Иммунология // Пер. с англ. Л.В. Ковальчук. — М.: Логосфера. — 2007. — 568 с.
3. Маливанова Т.Ф., Герштейн Е.С., Наседкина Т.В., Мазуренко Н.Н. Генетический полиморфизм локуса гена ФНО как маркер рецепторотрицательных РМЖ // Мат-лы 12 Российского онкологического конгресса 18-20 ноября 2008 г. — М.: РАГС при Президенте РФ. — С.106.
4. Мельников Д.Ю., Пушина И.В. Иммунный гомеостаз и его особенности при различных формах рака молочной железы. — Екатеринбург: Токмас-Пресс. — 2011. — 112 с.
5. Мельников Д.Ю., Пушина И.В. Характеристика иммунного статуса у больных раком молочной железы // Вопр. онкол. — 2011. — Т. 57. — С. 668 — 671.
6. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель, М. Хейни, С. Мисбах, Н. Сновден // Пер. англ. — 5-е изд. — М.: ГЭОТАР-медиа. — 2008. — 416 с.
7. Патфизиология / Под ред. А.И. Воложина, Г.В. Порядина // — М.: Издательский центр «Академия». — 2007. — Т. 1. — 272 с.
8. Andre F. Risk stratification for treatment choice: opportunities, challenges and tools // J. The Breast, St.Gallen, Switzerland, 13-16 march, 2013. — S10-11.
9. Tsavaris N., Kosmas C., M. Vadiaka V. et al. Immune changes in patients with advanced breast cancer undergoing chemotherapy with taxanes // Br. J. Cancer. — 2002. — Vol. 87. — P. 21-27. doi:10.1038/sj.bjc.6600347 www.bjcancer.com
10. Pushina I.V., Melnikov D. Yu., Beykin Y.B. The serious combination immunodeficiency of hormone dependent breast cancer // IMPACT breast cancer conference, Brussels, May — 2010. — P. 29.
11. Sotiriou C., Fumagalli D. Immune signatures: prognostic and predictive role in breast cancer // J. The Breast, St.Gallen, Switzerland, 13-16 march, 2013. — S.11.

Поступила в редакцию 19.04.2013