

УДК 618.19: [616-006: 612.12-017.1](045)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И СОСТОЯНИЯ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИИ И НЕОПЛАЗИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

¹Чеснокова Н.П., ^{1,2}Барсуков В.Ю., ^{1,2}Агабеков А.И., ³Горячева В.С., ¹Кучина В.С.

¹ФГБОУ ВО «Саратовский Государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, e-mail: v.kuchina@mail.ru;

²НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II «РЖД», Саратов;

³ГУЗ «Областной онкологический диспансер № 2», Саратов

Проведена сравнительная оценка показателей периферической крови и состояния клеточного иммунитета при фиброзно-кистозной мастопатии (ФКМ), начальных стадиях рака молочной железы (РМЖ) и аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки у пациентов, находящихся на обследовании и лечении на базе НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Саратов II» ОАО «РЖД» в период с 2013-2016 гг. В каждую из групп наблюдения было включено по 30 пациентов. Клеточный состав крови оценивался на аппарате «Sysmex-K1000» и с помощью световой микроскопии. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ Т-лимфоциты) проводилась методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител производства «Медбiosopectr» (Москва). Результаты исследований обработаны с использованием программы «Microsoft Excel, 97 SR-1» (Microsoft, 1997), «Statistica 99» (версия 5,5 А, «Statsoft, Inc» Москва, 1999), позволяющим определять величину критерия достоверности Стьюдента, достоверности различий. Целью настоящего исследования явилось установление особенностей системных паранеопластических расстройств при неоплазиях указанных локализаций и характера реактогенных сдвигов со стороны периферической крови при ФКМ. Для начальных стадий узловой формы РМЖ (T1-2N0M0) и аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (T1-2N0M0) характерно развитие моноцитопении, лимфопении и снижение уровня CD3 Т-лимфоцитов за счет падения количества CD4 Т-лимфоцитов. При развитии ФКМ с преобладанием фиброзного компонента не выявлено изменения общего количества лимфоцитов. Однако отмечено изменение субпопуляционного состава лимфоцитов в виде снижения уровня CD3 Т-лимфоцитов за счет уменьшения количества CD8 Т-лимфоцитов

Ключевые слова: клеточный иммунитет, фиброзно-кистозная мастопатия, неоплазия

COMPARATIVE EVALUATION OF PERIPHERAL BLOOD VALUES AND CELL-MEDIATED IMMUNITY STATUS IN PATIENTS WITH FIBROCYSTIC BREAST DISEASE AND NEOPLASMS AT VARIOUS SITES

¹Chesnokova N.P., ^{1,2}Barsukov V.Yu., ^{1,2}Agabekov A.I., ³Goryacheva V.S., ¹Kuchina V.S.

¹V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of Russian Minzdrav State Government-Funded Educational Institution of Higher Professional Education, Saratov, e-mail: v.kuchina@mail.ru;

²Railway Clinical Hospital at the Saratov-II Station of the RZhD OAO (Open Joint-Stock Company) Non-Government Healthcare Institution №

³Regional oncologic dispensary № 2, Saratov

Comparative evaluation of peripheral blood values and cell-mediated immunity status in patients with fibrocystic breast disease, early breast cancer, and ascending colon adenocarcinoma has been made, such patients undergoing a course of examination and treatment at the Railway Clinical Hospital at Saratov II Station of the Russian Railways OAO (Open Joint-Stock Company) in 2013-2016. Each study group consisted of 30 patients. Sysmex-K1000 analyzer and optical microscopy have been employed to evaluate blood cell composition. Method of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies produced by Medbiosopectr (Moscow) has been used to evaluate the pattern of lymphocyte subpopulations (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺T-lymphocytes). The examination findings have been processed with the Microsoft Excel 97 SR-1 (Microsoft, 1997) and Statistica 99 (version 5.5 A, Statsoft Inc., Moscow, 1999) allowing us to define the Student validation criterion and statistical significance. This research has been aimed at identifying the peculiarities of systemic paraneoplastic disorders in patients with neoplasms at the said sites, and at establishing the nature of reactogenic shifts in peripheral blood in patients with fibrocystic breast disease. Early stages of nodule breast cancer (T1-2N0M0) and ascending colon adenocarcinoma (T1-2N0M0) are characterized by monocytopenia, lymphocytopenia, and reduction in the level of CD3 T-lymphocytes caused by the fall of the CD4 T-lymphocyte amount. No changes in the total amount of lymphocytes have been found in patients with fibroid predominant fibrocystic breast disease. However, changes in the pattern of lymphocyte subpopulations in the form of reduction in the level of CD3 T-lymphocytes caused by the fall of the CD8 T-lymphocyte amount have been noted.

Keywords: cell-mediated immunity, fibro-cystic mastopathy, neoplasms

Проблемы этиологии и патогенеза рака молочной железы остаются актуальными до настоящего момента, несмотря на мно-

гочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов в совершенствовании принципов комплексной терапии данной

формы онкопатологии. На долю рака молочной железы в общей структуре новообразований приходится от 12 до 21 %, занимая, тем самым, одно из первых мест в структуре причин смертности женского населения после 50 лет, страдающих онкологической патологией, (Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П., 2007; М.И. Давыдов, Е.М. Аксель, 2012). Установлено, что важнейшим фактором риска развития рака молочной железы является наличие фоновых заболеваний, к числу которых относятся узловые формы мастопатии и другие доброкачественные заболевания молочных желез с интенсивной пролиферацией эпителиальных клеток (Коган И.Ю., Полянин А.А., Мясникова М.О., Солнцева И.А., 2004; Сидоренко Л.Н., 2007).

К настоящему моменту достигнуты большие успехи в решении проблем онкогенетики, а также в патогенетическом обосновании принципов диагностики и комплексной терапии злокачественных новообразований различной локализации, в то же время, остаются малоизученными механизмы трансформации доброкачественной дисплазии молочных желез в неопластический процесс.

Согласно современным концепциям, развитие канцерогенеза является следствием так называемых «пошаговых мутаций» или эпигеномного действия канцерогенов химической, биологической и физической природы. Как известно, процесс малигнизации клеток закономерно переходит в фазы промоции и опухолевой прогрессии лишь в случаях недостаточности механизмов элиминации онкогенно-трансформированных клеток при участии моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем в ответ на действие клеток, несущих генетически чужеродную информацию, т.е. на фоне различных иммунодефицитных состояний (Георгиев Г.П., 1999; В.М. Попков, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков, 2012).

До настоящего момента остаются малоизученными характер нарушений клеточного состава периферической крови и субпопуляционного состава лимфоцитов при фиброзно-кистозной мастопатии и их отличия от таковых при неоплазиях различной локализации, в частности, при узловой форме рака молочной железы и аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки.

Как известно, кровь является одной из реактогенных систем организма в ответ на действие различных патогенов, в частности, онкогенных факторов, что послужило обоснованием сравнительной оценки клеточного состава периферической крови и субпопуляционного состава лимфоцитов

при доброкачественной дисплазии молочных желез и неоплазиях различной локализации (Копнин Б.П., 2000).

Цель исследования

Провести сравнительную оценку показателей клеточного звена иммунитета при фиброзно-кистозной мастопатии с преобладанием фиброзного компонента, а так же при неоплазиях различной локализации, в частности при узловой инфильтрирующей протоковой форме рака молочной железы (T1-2N0M0) и при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки (T1-2N0M0) в соответствии с мониторингом показателей клеточного состава периферической крови и субпопуляционного состава лимфоцитов (CD 3⁺, CD 4⁺, CD 8⁺, CD 19⁺ Т-лимфоцитов).

Материалы и методы исследования

Для решения поставленной цели проведено комплексное обследование пациентов (в период с 2013 по 2016 гг.) с фиброзно-кистозной мастопатией с преобладанием фиброзного компонента, а так же начальными стадиями развития неоплазий: узловой инфильтрирующей протоковой формы рака молочной железы (T1-2N0M0) и аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (T1-2N0M0).

Для верификации диагноза использовались традиционные клиничко-лабораторные методы обследования: ультразвуковое исследование молочных желез, органов брюшной полости, маммография, рентгенологическое исследование, магнитно-резонансная томография, компьютерная томография, колоноскопия, а также пункционно-аспирационная и инцизионная биопсия с последующим гистологическим исследованием, обеспечиваемые наличием соответствующей клиничко-лабораторной базы НУЗ «Дорожная клиническая больница станции Саратов-II ОАО «РЖД» (кафедра хирургии и онкологии ФПК и ППС).

Рандомизация групп наблюдения проводилась в соответствии с возрастными особенностями и последней классификацией злокачественных опухолей TNM, издание 6, 2006 г.

В каждую из групп наблюдения было включено по 30 пациентов с фиброзно-кистозной мастопатией и начальными стадиями опухолевого процесса.

В 1-ую группу были включены пациентки в возрасте 50-60 лет (климактерический и постменопаузальный возрастные периоды) с узловой инфильтрирующей протоковой формой рака молочной железы без метастазов (стадии T1-2N0M0 по системе классификации злокачественных опухолей TNM, издание 6, 2006 г.) Другие морфологические формы РМЖ: дольковый рак, инфильтрирующий протоковый рак с преобладанием внутريدолькового компонента и др., были исключены из исследования.

Во 2-ую группу входило аналогичное число пациенток соответствующего возраста с фиброзно-кистозной мастопатией с преобладанием фиброзного компонента.

3-ю группу составляли 30 пациентов с начальными стадиями аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (T1-2N0M0).

Клеточный состав крови оценивался на аппарате «Sysmex-K1000» и с помощью световой микроскопии. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$ Т-лимфоциты) проводилась методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител производства «Медбиоспектр» (Москва). Результаты исследований обработаны с использованием программы «Microsoft Excel, 97 SR-1» (Microsoft, 1997), «Statistica 99» (версия 5,5 A, «Statsoft, Inc» Москва, 1999), позволяющим определять величину критерия достоверности Стьюдента, достоверности различий.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования позволили обнаружить определенные особенности изменений клеточного состава периферической крови и субпопуляционного состава лимфоцитов при доброкачественной мастопатии и неоплазиях различной локализации.

Так, при формировании фиброзно-кистозной мастопатии с преобладанием фиброзного компонента общее количество лейкоцитов достигало верхней границы референтных значений, не отличающихся практически от показателей контроля. В то же время развитие начальных стадий узловой формы рака молочной железы сопровождалось реактогенной лейкопенией (табл. 1), а при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки общее количество лейкоцитов оставалась в пределах референтной нормы ($P > 0,05$).

Сравнительная оценка лейкоцитарной формулы при указанных формах патоло-

гии позволила обнаружить развитие моноцитопении, эозинофилии и лимфопении при развитии начальных стадий рака молочной железы, между тем при фиброзно-кистозной мастопатии имело место формирование незначительной моноцитопении при отсутствии выраженных изменений других показатели лейкоцитарной формулы (табл. 1).

Что касается клеточного состава периферической крови при раке толстого кишечника, то при данной форме онкопатологии, как и при раке молочной железы, имели место лимфопения ($P < 0,001$) и моноцитопения ($P < 0,001$).

Таким образом, развитие доброкачественной дисплазии молочной железы, в отличие от неопластических процессов, практически не отражается на клеточном составе периферической крови: общее количество лейкоцитов оставалось в пределах нормы, а изменения в лейкоцитарной формуле проявлялись лишь формированием незначительно-выраженной моноцитопении (табл. 1). Последняя, как указывалось выше, отмечается и при неопластических процессах различной локализации, однако, в большей степени.

Далее представляло интерес изучить характер изменений субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, обеспечивающих формирование специфических иммунологических механизмов защиты организма против различных клеток, несущих генетически чужеродную информацию.

Таблица 1
Показатели периферической крови как дифференциально диагностический критерий развития ФКМ и узловой формы РМЖ

Показатель	Контрольная группа		1 группа (пациентки с ФКМ)			2 группа (пациентки с узловой формой РМЖ)		
	n	M + m	n	M + m	P	n	M + m	P
Общее число лейкоцитов ($\cdot 10^9/\text{л}$)	30	$7,1 \pm 0,27$	30	$7,95 \pm 0,95$	$P > 0,05$	30	$4,9 \pm 0,32$	$P < 0,05$ $P1 < 0,05$
Палочкоядерные лейкоциты (%)	30	$4,2 \pm 0,29$	30	$3,7 \pm 0,08$	$P > 0,05$	30	$3,9 \pm 0,27$	$P > 0,05$ $P1 > 0,05$
Сегментоядерные лейкоциты (%)	30	$63,1 \pm 2,59$	30	$61,3 \pm 2,5$	$P > 0,05$	30	$66,2 \pm 3,47$	$P > 0,05$ $P1 > 0,05$
Моноциты (%)	30	$6,5 \pm 0,22$	30	$5,6 \pm 0,09$	$P < 0,05$	30	$5,2 \pm 0,17$	$P < 0,05$ $P1 < 0,05$
Эозинофилы (%)	30	$2,0 \pm 0,11$	30	$2,2 \pm 0,09$	$P < 0,05$	30	$2,4 \pm 0,13$	$P < 0,05$ $P1 > 0,05$
Лимфоциты (%)	30	$26,3 \pm 1,31$	30	$32,8 \pm 1,65$	$P < 0,05$	30	$20,6 \pm 1,22$	$P > 0,05$ $P1 < 0,05$

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля; P1 – рассчитано по отношению к соответствующим показателям у пациенток с ФКМ.

Таблица 2

Показатели состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета при ФКМ и узловой форме РМЖ

	Контрольная группа наблюдений		Фиброзно-кистозная мастопатия			Узловая форма рака молочной железы, стадии T1-2N0M0		
	n		n			n		
CD19 ⁺ , %	30	18,91 ± 1,1	30	14,40 ± 1,51	P > 0,1	30	17,6 ± 1,34	P > 0,05 P1 > 0,05
CD3 ⁺ , %	30	68,41 ± 4,9	30	44,27 ± 0,67	P > 0,01	30	53,2 ± 3,9	P > 0,05 P1 < 0,05
CD4 ⁺ , %	30	40,92 ± 2,8	30	34,8 ± 2,13	P > 0,05	30	28,8 ± 2,2	P > 0,05 P1 > 0,05
CD8 ⁺ , %	30	22,72 ± 1,62	30	11,87 ± 1,66	P > 0,1	30	26,1 ± 1,3	P > 0,05 P1 < 0,05

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля; P1 – рассчитано по отношению к соответствующим показателям у пациенток с ФКМ.

Так, при фиброзно-кистозной мастопатии, несмотря на отсутствие изменения общего количества лимфоцитов периферической крови, возникали выраженные изменения субпопуляционного состава лейкоцитов, проявляющиеся в снижении уровня CD3 + Т-лимфоцитов за счет снижения CD8 + Т-лимфоцитов, включающих, как известно субпопуляции Т-киллеров и продуцентов лимфокинов (табл. 2).

В то же время при неопластическом процессе, в частности при раке молочной железы снижалось содержание CD3 + Т-лимфоцитов, за счет падения субпопуляции CD4 + Т-хелперов, при отсутствии изменений CD8 + Т-лимфоцитов (табл. 2).

Что касается субпопуляционного состава лимфоцитов при раке толстого кишечника на начальных стадиях развития онкопатологии имело место снижение уровня CD3 + Т-лимфоцитов ($P < 0,001$) за счет уменьшения субпопуляции CD4 + Т-лимфоцитов ($P < 0,001$), при отсутствии изменений уровня CD8 + Т-лимфоцитов ($P > 0,05$).

Обращает на себя внимание факт отсутствия уровня CD19 + В-лимфоцитов и при фиброзно-кистозной мастопатии и при начальных стадиях развития неопластических процессов (раке молочной железы и аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки).

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что сравнительная оценка показателей субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови позволила выявить общие закономерности изменения иммунного статуса при раке молочной железы и при раке толстого кишечника, проявляющееся снижением содержания в крови CD3 + Т-лимфоцитов, за счет снижения уровня CD4 + Т-лимфоцитов, обеспечиваю-

щих вовлечение в иммунный ответ эффекторных клеток В и Т системы иммунитета. При развитии фиброзно-кистозной мастопатии снижение уровня CD3 + лимфоцитов происходило за счет падения уровня CD8 + Т-лимфоцитов, обеспечивающих киллерную функцию и продукцию медиаторов гиперчувствительности клеточного типа.

Фиброзно-кистозная мастопатия является одной из наиболее частых форм патологии молочных желез, относящихся к факторам риска развития рака молочной железы. До настоящего времени остаются в значительной мере не изученными характер и механизмы развития системных паранеопластических расстройств, сопутствующих онкогенной трансформации клеток и переходу доброкачественных диспластических процессов в неопластические процессы.

В связи с этим, выявление особенностей изменений реактогенных свойств крови при фиброзно-кистозной мастопатии и злокачественных новообразованиях различной локализации имеют определенное диагностическое и прогностическое значение, а также могут дополнить современные представления о характере паранеопластических расстройств при доброкачественных и злокачественных новообразованиях.

Выводы

Результаты проведенных исследований позволили сделать следующие выводы:

1. При развитии фиброзно-кистозной мастопатии с преобладанием фиброзного компонента отсутствует изменение общего числа лейкоцитов, при одновременном незначительном сдвиге лейкоцитарной формулы в виде моноцитопении, а также изменениями субпопуляционного состава лимфоцитов проявляющихся падением

уровня CD3 + Т-лимфоцитов за счет снижения уровня CD8 + Т-лимфоцитов.

2. Характерной особенностью развития начальных стадий неоплазий: узловой формы рака молочной железы и аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, является развитие моноцитопении и лимфопении. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов возникало в виде снижения уровня CD3 + Т-лимфоцитов за счет падения уровня CD4 + Т-лимфоцитов.

3. Отличительной особенностью изменений субпопуляционного состава лимфоцитов при неоплазиях различной локализации является развитие недостаточности функций CD4 + Т-лимфоцитов хелперов, обеспечивающих в условиях нормы включение в иммунный ответ Т- и В- систем лимфоцитов.

4. При доброкачественной дисплазии молочных желез возникает недостаточность эфферентного звена клеточно-го иммунитета, обеспечиваемого CD8 + Т-лимфоцитами, обладающих киллерной и лимфокинпродуцирующей активностью.

Список литературы

1. Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П. Рак молочной железы: патофизиологические и клинические аспекты. – Саратов, 2007. – С. 268.
2. Георгиев Г.П. Как нормальная клетка превращается в раковую? // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 4. – С. 17-22.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2006. – № 3, т. 17. – прилож. 1.
4. Канцерогенез: патофизиологические и клинические аспекты / под общ. Ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов: Изд-во: СГМУ, 2014. – 600 с.
5. Канцерогенез, цитокины и иммунитет: патогенетическая взаимосвязь в динамике развития неоплазий / под общей редакцией В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2014. – 328 с.
6. Коган И.Ю., Полянин А.А., Мясникова М.О., Солнцева И.А. Мастопатия (фиброзно-кистозная болезнь): диагностические подходы // Журнал акушерства и гинекологических болезней. Выпуск № 2 / том LIII – 2004.
7. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия. – 2000. – Т. 65. – В. 1. – С. 5-33.
8. Сидоренко Л.Н. Мастопатия. – СПб.: Гиппократ, 2007. – 356 с.
9. Owens M.A., Horten B.C., Da Silva M.M. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues // Clin Breast Cancer. – 2004. – № 5. – P. 63-9.