

УДК: 618.19-006.6-003.2-612.112(045)

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ПРИ ОТЕЧНО-ИНФИЛЬТРАТИВНОЙ ФОРМЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П.

*Саратовский государственный медицинский университет Росздрава,
кафедра патологической физиологии*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В работе представлены данные комплексных клинико-лабораторных исследований иммунного статуса, гемостаза, а также метаболических сдвигов у больных отечно-инфильтративной формой рака молочной железы (РМЖ). Одним из ведущих факторов нарушения элиминации малигнизированных клеток и перехода стадии трансформации в стадию промоции являются развитие В-зависимого и Т-зависимого иммунодефицитных состояний, снижение уровня NK-клеток крови. Снижение коагуляционного потенциала крови, активация системы фибринолиза, закономерно возникающие у больных отечно-инфильтративной формой РМЖ, свидетельствуют с одной стороны - о развитии «гипокоагуляции потребления», а с другой – являются прогностически неблагоприятными признаками. Последнее обусловлено возможностью усиления распада белка под влиянием активаторов плазминогена урокиназного и тканевого типов, экспрессируемых опухолевыми клетками; структурной дезорганизацией ткани в отдаленных от зоны неоплазии очагах и созданием «ложа» для метастазирующих клеток. Свойственные отечно-инфильтративной форме РМЖ усиление продукции цитокинов: ИЛ-1, TNF α , ГКСФ имеет, по-видимому, компенсаторно-приспособительный характер.

Известно, что отечно-инфильтративная форма РМЖ характеризуется крайне агрессивным течением заболевания, низким процентом безрецидивной выживаемости, высокой летальностью и резистентностью к существующим в настоящее время принципам комплексной терапии. Характерной особенностью указанной клинической формы патологии является отсутствие или слабовыраженная экспрессия на малигнизированных клетках рецепторов к эстрогенам, прогестерону на фоне высокой экспрессии рецепторного белка HER2/неу, обладающего тирозинкиназной активностью и обеспечивающего стимуляцию митотической активности клеток под влиянием фибробластического, тромбоцитарного, эпидермального и других факторов роста.

До настоящего момента остаются неизученными прогностически неблаго-

приятные системные метаболические сдвиги, сопутствующие развитию отечно-инфильтративной формы РМЖ и в определенной степени способствующие опухолевой прогрессии, в частности состояние процессов липопероксидации, антирадикальной защиты клеток, коагуляционного гемостаза и иммунных механизмов защиты. Как известно, состояние процессов липопероксидации в условиях нормы определяет характер модификации фосфолипидного бислоя биологических мембран, энергетического и пластического обеспечения клеток, активности транспортных и рецепторных систем мембран, возбудимость клетки и многие внутриклеточные метаболические процессы. Чрезмерное же образование свободных радикалов может быть одним из патогенетических факторов мутагенеза и канцерогенеза (2, 4, 7, 8, 10).

Несмотря на наличие ряда исследований по изучению состояния свободнорадикального окисления у онкологических больных, до настоящего момента практически отсутствуют сведения о роли интенсификации процессов липопероксидации в механизмах развития рака молочной железы (РМЖ).

В то же время не систематизированы и представления о роли отдельных субпопуляций, а именно, CD8 и CD4-Т-лимфоцитов, NK-клеток, а также В-лимфоцитов в механизмах прогрессирующего течения отечно-инфильтративной формы РМЖ и развития метастазирования. Нет и единой точки зрения относительно механизмов формирования иммунодефицита у онкологических больных и в частности роли нарушений иммунологического надзора за внутренней средой у больных РМЖ. В то же время один из этапов опухолевой прогрессии - метастазирование опухолевых клеток, обеспечивается в значительной мере за счет активации протеолитических систем, в частности системы фибринолиза (9).

В связи с вышеизложенным *целью настоящей работы* явилось изучение состояния процессов липопероксидации, антирадикальной защиты клеток, иммунного и цитокинового статуса, а также коагуляционного гемостаза у больных с первичной отечно-инфильтративной формой РМЖ.

Материалы и методы

Для решения поставленной цели изучены содержание в крови и малигнизированной ткани молочной железы промежуточных продуктов липопероксидации диеновые конъюгаты (ДК) и малоновый диальдегид (МДА), а также состояние антирадикальной защиты клеток по показателям активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, АСТ, АЛТ, содержания сульфгидрильных групп, витамина Е в крови, перекисной резистентности эритроцитов, определяемых общепринятыми спектрофотометрическими и фотометрическими методами исследования (3, 13).

Одновременно проведена оценка характера изменения параметров коагуляционного гемостаза и фибринолиза по общепринятым показателям, таким как: про-

тромбиновое время, протромбиновый индекс, протромбиновое отношение, а также тромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ-тест), уровень фибриногена и скорость фибринолиза (1, 6, 12, 15).

Иммунный статус больных раком молочной железы оценивался по показателям иммунограммы: количеству Т-лимфоцитов (CD3), В-лимфоцитов (CD19), Т-хелперов (CD4), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8), их отношению, а также численности нормальных киллеров (CD16), определяемых методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител производства «Медбиоспектр» (Москва). Количественное содержание В-лимфоцитов (CD19) сопоставляли с функциональной активностью их субпопуляции на основании определения уровня сывороточных иммуноглобулинов различных классов: IgG, IgA и IgM, осуществляемого при помощи радиальной иммунодиффузии по методу Манчини.

Для оценки метаболической активности лимфоцитов и нейтрофилов, их способности к генерации свободных радикалов на фоне антигенной стимуляции использовали методы определения хемилюминесценции лимфоцитов, стимулированных ФГА, и хемилюминесценции лейкоцитов (в основном нейтрофилов), индуцируемых *St. aureus*. Интегративным показателем аутоинтоксикации являлось содержание молекул средней массы (МСМ) в крови.

Изучение вышеуказанных параметров проведено у 45 пациенток с отечно-инфильтративной формой РМЖ, находившихся на лечении в отделении онкологии НУЗ ДКБ г.Саратова с 2005г. по 2007г.

Результаты собственных исследований

Результаты исследований показали, что в изучаемой группе больных резко возрастала интенсивность процессов липопероксидации, о чем свидетельствовало увеличение в крови уровня МДА и ДК по сравнению с таковыми показателями в контрольной группе наблюдения. В то же время отмечалось выраженное снижение ПРЭ по отношению к соответствующим показателям контроля (табл. 1).

Таблица 1. Показатели состояния процессов липопероксидации, уровня МСМ и активности трансаминаз у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Группы наблюдения больных		
	n	M+m	n	M+m	P
ПРЭ (% гемолиз. эр.)	30	1,37±0,024	30	4,51±0,137	P<0,001
МДА в крови (нмоль/мл)	30	2,94±0,112	30	7,81±0,261	P<0,001
ДК в крови (ед/мл)	30	1,40±0,152	30	5,85±0,143	P<0,001
АЛТ (ед/л)	30	12,6±0,05	30	35,7±0,935	P<0,001
АСТ (ед/л)	30	13,2±0,03	30	33,5±0,842	P<0,001
МСМ (ед.опт.пл.)	30	0,24±0,01	30	0,82±0,032	P<0,001

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля

Уровень активности сывороточных трансаминаз и МСМ в крови был максимально высоким по отношению к таковым показателем группы контроля (табл.1), что свидетельствовало об усилении процессов цитолиза и аутоинтоксикации.

Таким образом, вышеописанное позволяет сделать заключение о том, что интенсификация липопероксидации, цитолиза, аутоинтоксикации, закономерно сочетаются с развитием отечно-инфильтративной формы РМЖ.

Далее представлялось целесообразным выяснить механизмы указанных метаболических сдвигов, в частности состоя-

ние ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови и их роль в их избыточном накоплении продуктов липопероксидации.

Как оказалось, активность антиоксидантной системы крови при изученной форме патологии прогрессивно снижалась по отношению к показателям контрольной группы, на что указывало достоверное уменьшение активности СОД, уровня витамина Е в крови. В то же время активность каталазы эритроцитов оставалась стабильной и не зависящей от стадии заболевания (табл. 2).

Таблица 2. Показатели состояния активности антирадикальной защиты клетки у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ без регионарных метастазов

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Группы наблюдения больных		
	n	M+m	n	M+m	P
СОД в цельной крови (Ед/мл)	30	429±18,3	30	243,9±9,17	P<0,001
Витамин Е в сыворотке крови (Ед.опт.плотности)	30	22,04±0,4	30	5,52±0,09	P<0,001
Каталаза эритроцитов (мк Е /1л эр.)	30	5,05±0,17	30	5,32±0,14	P>0,05

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля

Активация процессов липопероксидации на фоне недостаточности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы отмечены нами и в малигнизированной ткани молочной железы, где возникало чрезмерное накопление МДА и ДК (P<0,001).

Таким образом, результаты проведенных нами исследований убедительно

свидетельствует о том, что одним из закономерных паранеопластических сдвигов при отечно-инфильтративной форме РМЖ является активация процессов липопероксидации, на фоне недостаточности ферментного звена антиоксидантной системы крови. Последнее является ведущим фактором системной дестабилизации биологических мембран клеток различных орга-

нов и тканей, независимо от особенностей их морфофункциональной организации, в том числе, клеток крови, а также эндотелия сосудов.

В связи с этим возникает вопрос, не является ли системная активация свободно-радикальной дестабилизации биологических мембран клеток различной морфофункциональной организации одним из патогенетических факторов расстройств коагуляционного потенциала крови при отечно-инфильтративной форме РМЖ.

Действительно, в группе больных с отечно – инфильтративной формой рака молочной железы отмечалось резкое удлинение протромбинового времени, возрастание протромбинового отношения и снижение протромбинового индекса, возрастание АЧТВ, тромбинового времени (табл. 3).

Причем, увеличение времени АЧТВ указывало на снижение активности факто-

ров внутреннего механизма формирования протромбиназной активности.

В то же время выявленный нами факт увеличения тромбинового времени у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ может быть обусловлен рядом факторов, в частности снижением уровня фибриногена крови и/или активацией системы фибринолиза.

В связи с этим были изучены содержание фибриногена в крови в изучаемых нами группах больных и соответственно фибринолитическая активность крови.

При этом были отмечены следующие сдвиги:

1) высокий уровень фибриногена крови больных с отечно – инфильтративной формой РМЖ, достоверно превышающий показатель контроля (табл. 3);

2) активация фибринолитической системы крови, которая носила чрезвычайно выраженный характер.

Таблица 3. Характер изменения показателей коагуляционного гемостаза и системы фибринолиза у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Группы наблюдения больных		
	n	M±m	n	M±m	P
Протромбиновое время (в сек.)	30	16,5±0,15	30	23,1±0,12	P<0,001
Протромбиновый индекс (%)	30	100,5±4,89	30	76,9±1,84	P<0,001
Протромбиновое отношение	30	0,9±0,06	30	1,4±0,01	P<0,001
АЧТВ (в сек.)	30	31,2±1,01	30	42,4±1,04	P<0,001
Тромбиновое время (в сек.)	30	16,3±0,27	30	22,7±0,24	P<0,001
Фибриноген (г/л)	30	3,1±0,15	30	6,2±0,18	P<0,001
Фибринолиз (мин.)	30	9,1±0,28	30	3,2±0,15	P<0,001

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля

Одним из ведущих патогенетических факторов канцерогенеза являются предшествующие или сопутствующие иммунодефицитные состояния.

Как известно, развитие неоплазий не только индуцирует системный ответ В- и Т-лимфоцитов на онкоантигены, но и, в свою очередь, нередко обуславливается недостаточностью специфических механизмов защиты, обеспечивающих иммуно-

логический надзор за внутренней средой, элиминацию клеток, подвергшихся онкогенной трансформации (5, 11).

Результаты проведенных нами исследований позволили обнаружить снижение процентного содержания CD3-Т-лимфоцитов, CD16-лимфоцитов у больных первичной отечно-инфильтративной формой РМЖ по отношению к контрольной группе наблюдения (табл. 4).

Таблица 4. Показатели клеточного звена иммунитета и неспецифической резистентности у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ без регионарных метастазов

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Группы наблюдения больных		
	n	M+m	n	M+m	P
CD3 (%)	34	69,71±2,18	34	45,12±1,21	P<0,001
CD4 (%)	34	41,12±2,41	34	20,56±1,54	P<0,001
CD8 (%)	34	23,31±0,89	34	29,41±0,54	P<0,001
CD4/CD8	34	1,76±0,071	34	0,71±0,033	P<0,001
CD16 (%)	34	18,32±0,66	34	12,96±0,51	P<0,001
ХЛ лимфоцитов с ФГА (индекс стимуляции)	34	1,47±0,075	34	0,75±0,054	P<0,001
ХЛ лейкоцитов с St. aureus	34	558±19,2	34	391±9,2	P<0,001
IgG (г/л)	34	15,75±0,212	34	9,85±0,187	P<0,001
IgA (г/л)	34	3,26±0,012	34	1,95±0,026	P<0,001
IgM (г/л)	34	1,73±0,015	34	0,98±0,013	P<0,001
CD19 (%)	34	20,03±1,051	34	14,72±1,025	P<0,001

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля

Одновременно было выявлено снижение в крови субпопуляций CD4-Т-лимфоцитов и достоверное увеличение процентного содержания CD8-Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой (табл. 4).

До настоящего момента нет четкой определенности в характере и механизмах нарушений гуморального звена иммунитета при отечно-инфильтративной форме РМЖ. Естественно предложить, что выявленное нами закономерное снижение субпопуляции CD4 Th может явиться одним из ведущих механизмов подавления гуморального звена иммунитета, формирующегося на Т-зависимые антигены у обследуемого контингента онкологических больных. Вышеизложенное определило задачи данного фрагмента исследований, включающего определение в крови процентного содержания CD19- Т-лимфоцитов, а также уровня иммуноглобулинов трех важнейших и представительных классов гуморального звена иммунитета: IgG, IgM, IgA.

Как оказалось, уже в момент поступления в стационар больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ возникало выраженное подавление активности В-

зависимого иммунитета: содержание в крови IgG, IgA, IgM, а также уровень CD19- были заметно ниже таковых показателей контроля (табл. 4).

Таким образом, отечно-инфильтративная форма РМЖ формируется на фоне резкого подавления антителозависимого фагоцитоза и антителозависимой цитотоксичности НК-клеток, уровень которых как показано нами ранее резко снижается. В то же время отмечено снижение генерации свободных радикалов антигенстимулированными лимфоцитами и фагоцитирующими лейкоцитами. Эти факторы предопределяют не только нарушение элиминации малигнизированных клеток, но и развитие следующей фазы канцерогенеза – промоции.

Как известно, развитие канцерогенеза закономерно сочетается с системными метаболическими расстройствами, развитием синдрома системного воспалительного ответа, индуцируемого в значительной степени провоспалительными цитокинами – ИЛ-1, TNFα, GCSF и другими. До настоящего момента остается практически неизученным цитокиновый статус у больных с отечно-инфильтративной формой РМЖ.

Таблица 5. Динамика содержания цитокинов в крови у больных с отечно-инфильтративной формой рака молочной железы

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Группы наблюдения больных		
	п	M±m	п	M±m	P
ИЛ-1 (пг/мл)	30	16,7±0,21	30	38,9±0,62	P<0,001
ФНО-α (пг/мл)	30	8,5±0,12	30	31,2±0,24	P<0,001
ГКСФ (пг/мл)	30	3,5±0,04	30	16,1±0,06	P<0,001

Примечание: P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля

Как оказалось изучение уровня цитокинов: ИЛ-1, TNFα, GCSF, у больных первичной отечно-инфильтративной формой РМЖ без метастазов позволило выявить резкое увеличение содержания их в крови уже в момент поступления в стационар (табл.5).

Касаясь значимости выявленного нами феномена необходимо остановиться на ряде данных литературы.

Как известно, продуцируемый клетками мононуклеарной фагоцитирующей системы цитокин-интерлейкин-1 (ИЛ-1) в комплексе с антигенассоциированным с I-а белками, стимулирует продукцию Т-хелперами интерлейкина-II. В то же время связь между Т-хелперами и макрофагами обеспечивается при участии адгезивных молекул, синтез которых, в свою очередь, зависит от интенсивности продукции макрофагами ИЛ-1, ИЛ-6, TNFα.

В отличие от ИЛ-1, TNFα обладает ярко выраженной способностью вызывать геморрагический некроз опухоли.

Туморнекротизирующий эффект обусловлен, по-видимому, усилением экспрессии эндотелиальных адгезивных белков под влиянием TNFα, адгезией лейкоцитов, тромбоцитов к сосудистой стенке, развитием явлений тромбоза, эмболии, нарушением трофики, васкуляризации и оксигенации опухоли (14).

Резюмируя в целом результаты исследований необходимо сделать следующие заключения:

1) отечно-инфильтративная форма РМЖ формируется на фоне системной и локальной (в зоне неоплазии) активации процессов липопероксидации, недостаточности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови и малигнизированной ткани молочной желе-

зы, гипокоагуляционных сдвигов гемостаза, активации системы фибринолиза.

2) одним из ведущих факторов нарушения элиминации малигнизированных клеток и перехода стадии трансформации в стадию промоции являются развитие В-зависимого и Т-зависимого иммунодефицитных состояний, снижение уровня НК-клеток крови.

3) снижение коагуляционного потенциала крови, активация системы фибринолиза, закономерно возникающие у больных отечно-инфильтративной формой РМЖ, свидетельствуют с одной стороны - о развитии «гипокоагуляции потребления», а с другой – являются прогностически неблагоприятными признаками. Последнее обусловлено возможностью усиления распада белка под влиянием активаторов плазминогена урокиназного и тканевого типов, экспрессируемых опухолевыми клетками и соответственно структурной дезорганизацией ткани в отдаленных от зоны неоплазии очагах, созданием «ложки» для метастазирующих клеток.

4) свойственные отечно-инфильтративной форме РМЖ усиление продукции цитокинов: ИЛ-1, TNFα, ГКСФ имеет, по-видимому, компенсаторно-приспособительный характер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., Кузник Б.И., Ломин К.М. Индекс инактивации тромбина и тромбопластина // Лаб.методы исследования системы гемостаза.-1980.-С.138-142.

2. Биленко М.В., Ладыгина В.Г., Федосова С.В. Сравнительная оценка цитотоксического эффекта перекиси водорода и фактора некроза опухоли альфа на ишемизированные и ишемизированные

эндотелиальные клетки // Вопросы медицинской химии.-1998.-№11.-С.229.

3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в эритроцитах // Лаб. дело.-1983.-№3.-С.33-35.

4. Георгиев Г.П. Как нормальная клетка превращается в раковые? // Сороковский образовательный журнал. 1999. №4. С.17-22.

5. Жогина Ж.А., Мусабаева Л.И., Осинев И.К., Великая В.В. Показатели периферической крови у больных местнораспространенным раком молочной железы при комплексном лечении с использованием нейтронной терапии // Материалы конгресса. IX Российский онкологический конгресс.-М.: Издательская группа РОНЦ им.Н.Н.Блохина РАМН, 2005.-с.136-137.

6. Зайчик А.Ш. Механизмы развития болезней и синдромов. Т.3 // А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов.-СПб: ЭЛБИ, 2001.

7. Игнарро Л.Дж. Физиология и патофизиология оксида азота. // Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии / Под ред. Э.В.Недашковского - Архангельск-Тромсе, 1997. - С. 266-269.

8. Коган А.Х. Патофизиология опухолей (Введение в общую теорию канцерогенеза) / А.Х. Коган-М., 1991.-240с.

9. Копнин Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного

роста // Материалы конгресса. X Российский онкологический конгресс.-М.: Издательская группа РОНЦ им.Н.Н.Блохина РАМН, 2006.-с.99-102.

10. Курникова В.В., Чеснокова Н.П., Салов И.А. О роли активации процессов липопероксидации при гиперпластических процессах эндометрия // Успехи современного естествознания.- Москва, 2003.- №2.-С.88.

11. Плохов В.Н. Оценка биологических факторов прогноза регионарного метастазирования и пятилетней выживаемости при раке молочной железы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Москва, 2001.

12. Ройтман Е.В. Термины, понятия и подходы к исследованию реологии крови в клинике / Е.В.Ройтман, Н.Н. Фирсов, М.Г. Дементьева // Тромбоз, гемостаз и реология.- 2000.-33.-С.5-12.

13. Суплонов С.Н., Баркова Э.Н. Колориметрический метод определения малонового диальдегида в цельной крови // Лаб.дело.-1986.-№8.-С.459-463.

14. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы.-СПб.: Наука, 2000.- 231с.-(Серия учебных пособий Т.1;Т.2).

15. Черешнев В.А., Кеворков Н.Н., Бахметьев Б.А. Физиология иммунной системы и экология // Иммунология.- 2001.- №3.- С. 12-16.

REGULARITIES OF PARANEOPLASTIC DISORDERS IN EDEMATOUS INFILTRATIVE BREAST CANCER

Barsukov V.Yu., Plokhov V.N., Chesnokova N.P.

Saratov state medical university, department of pathological physiology

Data on complex clinical and laboratory studies of immune status, hemostasis as well as metabolic shifts in patients with edematous infiltrative breast cancer are presented. Development of β -dependent and T-dependent immunodeficiency conditions and decrease in NK-blood cells are considered to be the leading factors in development of malignant cells elimination disorder and transition of transformation stage to promotion one. Decrease in coagulation blood potential, activation of fibrinolysis system which are typical for patients with edematous infiltrative breast cancer indicate the development of "hypocoagulation consumption". They are also proved to be prognostically unfavorable signs due to the possibility of albuminolysis intensification because of urokinase and tissue plasminogen activators influence expressed by neoplasia cells, structural disorganization of tissue in areas distant from the neoplasia focus as well as formation of "site" for metastatic cells. Intensification of production of cytokines: IL-1, TNF α , GCSF is typical for edematous infiltrative breast cancer and it is most probably of compensatory and adaptation nature.