



УДК 616.441-006.6:612.017.4:615.849.2

© 2008

Т. Ф. Захарченко, Г. А. Замотаєва, член-кореспондент НАН України  
М. Д. Тронько

### Порівняльний аналіз цитотоксичності природних клітин-кілерів у хворих з доброякісними та злоякісними пухлинами щитовидної залози до та після лікування

*The authors have studied the cytotoxic activity of natural killer (NK) cells. With this purpose, the NK-cell activity was determined in 49 patients with benign thyroid tumours and in 48 patients with malignant thyroid tumours (aged from 18 to 65 years, 84 women and 56 men) depending upon the age, gender, degree of spreading, and presence of tumour metastases before surgery and in 1 to 6 months after surgery. The control group (43 subjects) consisted of practically healthy persons of appropriate age and gender. In a second series of investigations, the authors have examined 35 patients with papillary thyroid cancer (TC) before prescribing a regular course of radioiodine therapy and 25 patients from this group who had received radioiodine therapy for eliminating a residual thyroid tissue and treating metastases. It has been shown that the NK-cell cytotoxic activity in patients with TC did not depend upon the age, but depended to a large extent upon the gender, degree of tumour spreading, and presence of metastases, being the lowest at T<sub>4</sub> stage and in the group with metastases. Unlike patients with benign tumours, in patients with papillary TC, the NK-cell activity was significantly suppressed. After surgical treatment of patients with TC, the NK-cell activity was decreased by 1.5 times as compared to that in healthy donors. After radioiodine therapy, the NK-cell activity in patients with papillary TC was additionally decreased by 1.3 times as compared to the initial indicator.*

Імунний статус хворих на рак різної локалізації, у тому числі щитовидної залози (ЩЗ), часто супроводжується вираженою депресією Т-клітинної ланки імунітету, яка, як правило, поглиблюється в процесі розвитку пухлини [1, 2]. Щодо природних кілерних клітин (ПКК), які виконують одну з основних функцій в протипухлинному нагляді і є важливим компонентом контролю за ростом пухлини та її метастазуванням, дані суперечливі [1]. Є відомості як про збільшений, так і про не змінений рівень ПКК в онкохворих [3]. Не завжди порушення функції ПКК корелює зі зміною кількості ПКК в периферичній крові, хоча в більшості випадків активність ПКК знижена, що часто поєднується зі схильністю їх до спонтанного апоптозу [4]. Порушення рівня та активності ПКК не завжди корелюють зі стадією злоякісної трансформації [1]. Така розбіжність даних літератури в кількісній та

функціональній характеристиках ПКК може бути пояснена не їхніми змінами, а порушеннями на рівні їхніх інгібіторних рецепторів, про що свідчать нещодавно отримані результати [5]. Трапляються тільки окремі повідомлення про зниження активності ПКК у пацієнтів зі злоякісною неоплазією ЩЗ за її дисемінації [2].

Дослідження активності ПКК залежно від віку і статі у хворих на тиреоїдні пухлини не проводилось. Як припускають дослідники, активність ПКК у здоровому організмі зумовлена геном імунної відповіді і істотно не змінюється протягом життя, однак відзначена статева відмінність [6].

Одним із методів діагностики та лікування раку щитовидної залози (РЩЗ) після видалення пухлини є застосування радіоактивного йоду [7]. Застосування оперативної та променевої терапії в онкологічних хворих може справляти сильну депресивну дію на показники клітинного імунітету [8], однак стосовно ПКК відомостей не достатньо.

Нами здійснено порівняльний аналіз активності ПКК хворих на злоякісні та доброякісні пухлини ЩЗ залежно від віку і статі пацієнтів, ступеня поширення та наявності метастазів пухлини, а також визначено вплив хірургічного лікування та радіойодтерапії на активність ПКК.

Проведено дві серії досліджень. У першій серії обстежено 97 осіб віком від 18 до 65 років, які знаходилися на лікуванні в хірургічному відділенні Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України. Контрольну групу (43 особи) склали практично здорові донори відповідного віку. Для визначення залежності активності ПКК від віку усі пацієнти, 84 жінки та 56 чоловіків, були поділені на три вікові групи: перша — від 18 до 20 років, друга — від 21 до 40 років, третя — від 41 до 65 років. Активність ПКК визначали у 49 осіб з доброякісними та у 48 осіб із злоякісними (диференційованими) пухлинами ЩЗ. Дослідження проводили в залежності від статі, ступеня поширення і наявності метастазів пухлини. Без метастазів була 21 особа, з метастазами — 27 осіб. Стадію пухлинного процесу  $T_{1-3}$  мали 20 хворих,  $T_4$  (поширення пухлини за межі капсули) — 28 хворих.

Також визначено та проаналізовано показники активності ПКК у 31 пацієнта віком 20–65 років з доброякісними пухлинами ЩЗ (аденома та вузловий чи багатовузловий зоб) до операції та у 18 таких хворих після операції; у 28 хворих на папілярний РЩЗ до операції та у 15 відповідних хворих через 1–6 міс. після операції, коли вони знаходилися у стані еутиреозу.

У другій серії досліджень обстежено 35 хворих (віком 35–65 років) на папілярний РЩЗ до призначення чергового курсу радіойодтерапії та 25 хворих з цієї групи, які проходили радіойодтерапію в Інституті онкології АМН України з метою ліквідації залишкової тиреоїдної тканини та лікування метастазів. Лікувальна активність радіойоду ( $^{131}\text{I}$ ) становила 4130–4170 МБк, яку хворі одержали протягом 1–2 курсів. У групі після операції та радіойодтерапії дослідження проводили через 1–3 міс. Хворі цієї групи знаходились у стані гіпотиреозу, оскільки вони обстежувалися перед черговим сеансом лікування радіойодом і не приймали тироксин.

Дослідження цитотоксичної активності ПКК у периферичній крові проводили за методом Т. Намаока зі співавт. у модифікації І. Круглової [9]. Метод базується на спектрофотометричному визначенні кількості гемоглобіну, який вивільнився із зруйнованих ефektorними клітинами клітин-мішеней (мишачі еритроцити) у процесі їх сумісної інкубації.

Як свідчать наведені в табл. 1. дані, активність ПКК у межах усіх вікових груп здорових осіб, а також хворих з доброякісними та злоякісними новоутвореннями ЩЗ, істотно не змінюється. У порівнянні зі здоровими пацієнтами активність ПКК у хворих на РЩЗ

вірогідно ( $P < 0,001$ ) знижена майже в 2 рази в усіх вікових групах, у той час як у хворих з вузловим та багатовузловим зобом активність ПКК вірогідно ( $P < 0,01$ ) підвищена тільки у групі 21–40 років. Представлені дані підтверджують результати, одержані нами в попередніх дослідженнях [10].

Таким чином, активність ПКК залежить не від віку, а від конкретної патології. У всіх хворих на РЩЗ активність ПКК знижена в порівнянні зі здоровими пацієнтами і відрізняється від хворих з доброякісними новоутвореннями, в яких цей показник підвищений у певний віковий період.

Згідно з результатами дослідження активності ПКК у хворих з пухлинами ЩЗ залежно від статі (табл. 2), активність цих клітин у здорових чоловіків вірогідно вища, ніж у здорових жінок, що узгоджується з даними інших дослідників [6]. У хворих з доброякісними вузлами ЩЗ активність ПКК не має істотної статевої відмінності. У той же час при злоякісних тиреоїдних пухлинах у чоловіків цей показник в 1,3 раза нижчий, ніж у жінок.

При порівнянні активності ПКК жінок та чоловіків з доброякісними пухлинами та здоровими пацієнтами встановлено, що даний показник у жінок вищий, ніж у чоловіків. На відміну від цього, при злоякісних пухлинах активність ПКК відносно здорових донорів нижча як у жінок (1,5 раза), так і у чоловіків (у 2,3 раза), але у чоловіків більшою мірою.

Таблиця 1. Активність ПКК у хворих з доброякісними та злоякісними новоутвореннями ЩЗ залежно від віку

Вік пацієнтів, років	$n$	Щ, % ( $M \pm m$ )	$P$
Здорові донори			
18–20	14	$33,7 \pm 2,8$	—
21–40	14	$31,8 \pm 2,5$	$P_2 > 0,05$
41–65	15	$32,2 \pm 1,4$	$P_2 > 0,05, P_3 > 0,05$
Хворі з доброякісними пухлинами			
18–20	10	$35,1 \pm 2,4$	$P_1 > 0,05$
21–40	14	$42,1 \pm 2,6$	$P_1 < 0,01, P_2 > 0,05$
41–65	22	$36,6 \pm 1,9$	$P_1 > 0,05, P_2 > 0,05, P_3 > 0,05$
Хворі із злоякісними пухлинами			
18–20	20	$16,6 \pm 1,2$	$P_1 < 0,001$
21–40	21	$19,1 \pm 1,3$	$P_1 < 0,001, P_2 > 0,05$
41–65	8	$18,4 \pm 1,4$	$P_1 < 0,001, P_2 > 0,05, P_3 > 0,05$

Примітка. Вірогідність різниці:  $P_1$  — стосовно здорових донорів;  $P_2$  — стосовно осіб віком 18–20 років;  $P_3$  — стосовно осіб віком 21–40 років.

Таблиця 2. Активність ПКК у хворих з доброякісними та злоякісними новоутвореннями ЩЗ залежно від статі

Група пацієнтів	$n$	Щ, % ( $M \pm m$ )	$P$
Здорові донори			
чоловіки	20	$37,5 \pm 2,2$	—
жінки	23	$30,4 \pm 1,2$	$P_1 < 0,01$
Хворі з доброякісними пухлинами			
чоловіки	19	$37,0 \pm 3,2$	$P_2 > 0,05$
жінки	30	$39,0 \pm 1,7$	$P_1 > 0,05, P_2 < 0,001$
Хворі із злоякісними пухлинами			
чоловіки	17	$16,0 \pm 1,2$	$P_2 < 0,001$
жінки	31	$20,2 \pm 1,0$	$P_1 < 0,001, P_2 < 0,001$

Примітка.  $P_1$  — вірогідність різниці між чоловіками і жінками;  $P_2$  — вірогідність різниці стосовно здорових донорів.

Отже, активність ПКК у здорових осіб та хворих на пухлини ШЗ залежить від статі. У здорових чоловіків активність ПКК вища, ніж у жінок, а у чоловіків із злоякісними новоутвореннями активність ПКК знижується більшою мірою, ніж у жінок. Це може свідчити про недостатність вродженого імунітету в боротьбі з пухлиною та можливість виникнення ускладнень, які подовжують строки лікування.

Результати визначення функціональної активності ПКК у хворих на РШЗ залежно від ступеня поширення та наявності метастазів наведені в табл. 3. Показано, що у хворих на стадії Т<sub>4</sub> активність ПКК достовірно ( $P < 0,05$ ) знижена порівняно з хворими на стадії Т<sub>1-3</sub>. Це свідчить про істотне пригнічення активності ПКК при інвазії пухлини за межі капсули. За наявності злоякісних пухлин з метастазами зниження активності ПКК у хворих зі стадією Т<sub>4</sub> відносно стадії Т<sub>1-3</sub> поглиблюється, хоча різниця між цими групами недостовірна. Одержані нами дані корелюють з даними інших дослідників, які свідчать про нижчу активність ПКК у хворих на РШЗ з метастазами або з анапластичним РШЗ [2].

Таким чином, активність ПКК у хворих на РШЗ з метастазами знижується на 21% у порівнянні з хворими відповідної групи без метастазів.

У хворих з доброякісними пухлинами ШЗ активність ПКК до оперативного лікування підвищена в порівнянні з донорами, після операції — знижена, але не відрізняється від показника здорових донорів (табл. 4). Отже, у хворих з доброякісними пухлинами ШЗ найголовніша ланка у системі вродженого протипухлинного захисту — ПКК — функціонує нормально, захищаючи організм від онкогенного процесу.

Таблиця 3. Активність ПКК до лікування у хворих із злоякісними диференційованими пухлинами ШЗ залежно від ступеня їхнього поширення та метастазування

Наявність метастазів	<i>n</i>	Щ, % ( $M \pm m$ )	<i>P</i>
Стадія Т <sub>1-3</sub>			
Без метастазів	12	24,3 ± 1,2	—
З метастазами	8	18,2 ± 1,7	$P_1 < 0,01$
Стадія Т <sub>4</sub>			
Без метастазів	9	19,1 ± 2,1	$P_2 < 0,05$
З метастазами	19	14,3 ± 0,9	$P_1 < 0,05, P_2 > 0,05$

Примітка.  $P_1$  — вірогідність різниці стосовно груп без метастазів;  $P_2$  — вірогідність різниці стосовно стадій Т<sub>1-3</sub>.

Таблиця 4. Активність ПКК у хворих з пухлинами ШЗ до та після лікування

Група обстежених	<i>n</i>	Щ, % ( $M \pm m$ )	<i>P</i>
Здорові донори	29	32,8 ± 2,7	—
Хворі з доброякісними пухлинами ШЗ			
до операції	31	39,1 ± 1,8	$P_1 < 0,01$
після операції	18	30,1 ± 1,8	$P_1 > 0,05, P_2 < 0,01$
Хворі на папілярний РШЗ			
до операції	28	19,2 ± 1,2	$P_1 < 0,001, P_3 < 0,001$
після операції	15	21,7 ± 1,9	$P_1 < 0,01, P_2 > 0,05, P_3 < 0,01$
до радіойодтерапії	35	21,6 ± 1,3	$P_1 < 0,001$
після радіойодтерапії	25	16,9 ± 1,1	$P_1 < 0,001, P_4 < 0,01$

Примітка. Вірогідність різниці:  $P_1$  — стосовно групи здорових донорів;  $P_2$  — стосовно групи хворих до операції;  $P_3$  — стосовно групи хворих з доброякісними пухлинами;  $P_4$  — стосовно групи хворих до радіойодтерапії.

У хворих з папілярною карциномою активність ПКК у 1,7 раза нижча, ніж у здорових осіб, а також у 2,2 раза нижча за цей показник у хворих з доброякісними пухлинами (див. табл. 4). Встановлено пригнічення цитотоксичності ПКК свідчить про зниження природної протипухлинної резистентності у хворих на РЩЗ, що може призвести до його прогресування. Одержані результати узгоджуються з даними, отриманими нами раніше [10, 11], та даними інших дослідників, які вказують на депресію ПКК [1] за онкопатології, зокрема у хворих на РЩЗ [2].

Як свідчать дані літератури, у хворих на РЩЗ дітей встановлено зниження кількості Т-лімфоцитів (CD3+), а також їх субпопуляцій CD4+, CD8+ та CD16+ клітин у периферичній крові, що асоціювалось із порушенням їхньої ультраструктури [12].

Після операції активність ПКК у хворих на РЩЗ практично залишається на низьких значеннях і в 1,5 раза нижча, ніж у групі здорових донорів, що також збігається з даними інших дослідників [2].

Активність ПКК у групі оперованих хворих на папілярний РЩЗ до призначення радіоїодтерапії також знижена в порівнянні з контролем (див. табл. 4). Після проведення радіоїодтерапії активність ПКК у цих хворих достовірно ( $P < 0,001$ ) нижча в 1,9 раза в порівнянні з показником у здорових донорів і в 1,3 раза нижча ( $P < 0,01$ ) у порівнянні з показником у групі хворих до введення радіофармпрепарату, що свідчить про вплив опромінення, спричиненого інкорпорованим йодом-131.

Одержані нами дані узгоджуються з даними літератури, які свідчать про високу чутливість лімфоцитів та ПКК до опромінення, зокрема у хворих на РЩЗ [13, 14]. Так, Т. В. Воронцовою зі співавт. [14] при визначенні абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів крові дітей, прооперованих з приводу РЩЗ, які отримали сумарну лікувальну дозу йоду-131 ( $(27,5 \pm 1,73)$  ГБк), показано істотне зниження цих показників у порівнянні з такими в групах хворих без радіоїодтерапії і встановлено, що інгібіція імунітету знаходиться в прямій залежності від дози радіоїоду, одержаної в результаті лікування. Дослідження пацієнтів, хворих на РЩЗ, після тиреоїдектомії та опромінення йодом-131 (в дозі 3700 МБк), проведені А. Тофані зі співавт. [13], показали значне зниження числа лімфоцитів, зокрема CD4+ -лімфоцитів та НК-клітин, а також В-лімфоцитів, у ранній (15–60 діб) строк після радіоїодтерапії, що свідчить про високу радіочутливість цих клітин.

Встановлені порушення у хворих на РЩЗ, які проходять лікування йодом-131, можуть виявлятися в першу чергу на цитогенетичному рівні, на що вказують дані літератури [15].

Порівняльний аналіз цитотоксичності ПКК у хворих з доброякісними та злоякісними пухлинами ЩЗ до та після лікування показав, що у здорових донорів та хворих з новоутвореннями ЩЗ активність ПКК в межах вікових груп не зазнає істотних змін. Активність ПКК у здорових чоловіків вища, ніж у здорових жінок. У чоловіків та жінок з доброякісними вузлами ЩЗ активність ПКК не має істотної відмінності. При злоякісних тиреоїдних пухлинах у чоловіків цей показник в 1,3 раза нижчий, ніж у жінок. У хворих з доброякісними пухлинами ЩЗ активність ПКК підвищена, що відрізняє її від показника у хворих на папілярний РЩЗ, в яких активність ПКК значно пригнічена. Після тиреоїдектомії активність ПКК знижується в 1,5 раза в порівнянні зі здоровими донорами. Встановлено, що активність ПКК у хворих на РЩЗ до операції залежить від ступеня поширення пухлини і є найнижчою на стадії T<sub>4</sub>. Активність ПКК у хворих з метастазами знижується більшою мірою, ніж у групі хворих без метастазів. Після радіоїодтерапії активність ПКК у хворих на папілярний РЩЗ додатково знижується в 1,3 раза в порівнянні з вихідним показником.

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать про те, що у хворих на папілярний РЩЗ має місце пригнічення активності ПНК як до, так і після лікування, що відрізняє їх від хворих з доброякісними новоутвореннями ЩЗ. Зважаючи на виявлене порушення, у хворих на РЩЗ доцільно проводити комплексну терапію із залученням препаратів, модулюючих імунну систему, для запобігання розвитку рецидиву, ускладнень та хронічних запальних захворювань.

1. *Бережная Н. М., Чехун В. Ф.* Иммунология злокачественного роста. – Киев: Наук. думка, 2005. – 792 с.
2. *Baker J. R., Fosso C. K.* Immunological aspects of cancer arising from thyroid follicular cells // *Endocrine Reviews*. – 1993. – **14**, No 6. – P. 729–746.
3. *Green L. K., Greffin J.* Increased natural killer cells in fluids: a new, sensitive means of detection of carcinoma // *Acta cytol.* – 1996. – **40**, No 6. – P. 1240–1245.
4. *Bauerhofer T., Kuss I., Henderson B. et al.* Preferential apoptosis of CD56<sup>dim</sup> natural killer cell subset in patients with cancer // *Eur. J. Immunol.* – 2003. – **33**, No 1. – P. 119–124.
5. *Raulet D. H.* Interplay of natural killer cells and their receptors with the adaptive immune response // *Nature immunology*. – 2004. – **5**, No 10. – P. 996–1002.
6. *Scorza Smeraldi C. Hu., Radelli L., Fabio G., Vanoli M.* Age- and sex-dependent changes in natural killer cell activity // *Boll. Ist. sieroter. milan.* – 1987. – **66**, No 4. – P. 289–296.
7. *Schlumberger M., Pacini F.* Thyroid tumors. – Paris: Nucleon, 1999. – 345 p.
8. *Чернишов А. В.* Субпопуляції лімфоцитів і дія на організм іонізуючого випромінювання // *Укр. мед. часопис*. – 2004. – № 5 (43), IX/X 5/43. – С. 120–123.
9. *Круглова И. Ф.* Цитотоксическая активность киллерных клеток при туберкулезе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Киев, 1992. – 19 с.
10. *Чеботарев В. Ф., Комиссаренко И. В., Замотаева Г. А., Рыбаков С. И., Коваленко А. Е., Степура Н. Н., Котляренко Н. Н., Захарченко Т. Ф., Зубкова Г. А.* Иммунный статус больных различного возраста с новообразованием щитовидной железы // *Клинич. хирургия*. – 2000. – № 8. – С. 40–42.
11. *Пат. № 56952А, МПК 7 G01N33/48, A61B8/00.* Спосіб ранньої діагностики раку щитоподібної залози на фоні багатовузлового еутиреоїдного зоба / Ф. Х. Саїдова, Г. А. Замотаєва, Т. Ф. Захарченко – № 20021210582. – Опубл. 15.05.2003, Бюл. № 5.
12. *Тронько Н. Д., Зак К. П., Грузов М. А. и др.* Иммунологический фенотип и ультраструктура лимфоцитов крови детей, проживающих вблизи Чернобыльской АЭС, у которых диагностирован рак щитовидной железы // *Доп. НАН України*. – 1999. – № 9. – С. 186–190.
13. *Tofani A., Sciuto R., Cioffi R. P. et al.* Radioiodine-induced changes in lymphocyte subsets in patients with differentiated thyroid carcinoma // *Eur. J. Nucl. Med.* – 1999. – **26**, No 8. – P. 824–829.
14. *Воронцова Т. В., Шаврова Е. Н., Кучинская С. В. и др.* Состояние иммунной системы детей, больных раком щитовидной железы, получающих гормональное лечение и радиойодтерапию // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. – 2001. – № 2. – С. 38–45.
15. *Popova L., Hadjidekova V., Hadjieva T. et al.* Cytokinesis-block micronucleus test in patients undergoing radioiodine therapy for differentiated thyroid carcinoma // *Hell. J. Nucl. Med.* – 2005. – No 8 (1). – P. 54–57.

*Институт ендокринології та обміну речовин  
ім. В. П. Комісаренка АМН України, Київ*

*Надійшло до редакції 06.07.2007*