

Динаміка активності натуральних кілерних клітин у хворих на рак щитоподібної залози різних вікових груп після радіойодотерапії

Т.Ф. Захарченко¹,
Г.А. Замотаєва¹,
С.В. Гулеватий¹,
Д.О. Джужа²

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»;

²ДУ «Національний інститут раку МОЗ України»

Резюме. Досліджено вікову залежність активності натуральних кілерних (НК) клітин у прооперованих хворих на диференційований рак щитоподібної залози без віддалених метастазів напередодні та через 6 днів, 1, 3 та 6 місяців після курсу радіойодотерапії (РІТ). До 1-ої групи увійшли 26 молодих пацієнтів, середній вік яких становив $28,6 \pm 1,1$ року. Групу 2 склали 33 хворих старшого віку (середній вік – $52,6 \pm 1,5$ року). Більшість хворих обох груп отримали 1-2 курси РІТ. Активність НК-клітин визначали в цитотоксичному тесті. Оцінку реакції проводили з використанням спектрофотометрії. Було виявлено, що в групі 1 активність НК-клітин протягом 3 місяців після РІТ не має істотної відмінності порівняно з вихідним значенням, а через 6 місяців – збільшується, що відрізняє динаміку активності НК-клітин після РІТ у хворих групи 2, у яких вона знижена в усі терміни після РІТ порівняно з вихідним значенням. У хворих групи 2 активність НК-клітин значно нижча, ніж у хворих 1-ї групи, що свідчить про вікову залежність показника, а також про нижчий рівень захисних можливостей НК-клітин.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, радіойодотерапія, активність НК-клітин, вік хворих.

Однією зі складових ефективного лікувального процесу прооперованих хворих на диференційований рак щитоподібної залози (ДРЩЗ) є застосування радіоіоду-131, яке необхідне для видалення залишкової тканини залози, лікування метастатичних уражень та вияв-

лення можливого рецидиву хвороби. За один курс радіойодотерапії (РІТ) дозове навантаження на кровотворні органи та периферичну кров хворого на ДРЩЗ досягає 0,5 Гр. Відомо, що тканини організму чутливіші до опромінення в молодості, ніж у старості. До того ж, у хворих молодого віку (до 25 років) спостерігається агресивніший перебіг і раннє метастазування ДРЩЗ. З іншого боку, метаболізм та швидкість виведення радіоізотопів з орга-

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

Оригінальні дослідження

нізму молодих пацієнтів інтенсивніші, ніж у хворих старшого віку, що деякою мірою може зменшувати опромінення здорових тканин та клітин периферичної крові. До несприятливих чинників, які впливають на прогноз ДРЩЗ, відносять вік пацієнта понад 45 років [1, 2].

Важливу роль у боротьбі організму з онкопатологією та її ускладненнями відіграє стан вродженого імунітету, зокрема, натуральних кілерних клітин (natural killer cells, НК-клітин). На мембранній поверхні вони експресують ряд рецепторів міжклітинної взаємодії (лінійні маркери) - CD16, CD56, CD57, CD8 та ін. Відмічено, що активність НК-клітин у людей є досить індивідуальною. У нормі можливий високий, середній та низький її рівень. Люди з низькою активністю НК-клітин можуть бути більш сприйнятливі до інфекції та онкозахворювань. Згідно з сучасними уявленнями, рівень активності НК-клітин в організмі зумовлений генетичними чинниками і залежить від співвідношення інгібіторних (KIR, CD94-NKG2A) та активаторних (KIR, NKG2D, NKp46, NKp44, NKp30) рецепторів на їхній поверхні. Розпізнавання НК-клітинами клітин-мішеней в організмі відбувається незалежно від сенсibilізації антигеном. Порушення структури, зниження експресії молекул головного комплексу гістосумісності I класу (HLA-I) на клітинах-мішенях, яке з'являється при інфекції чи пухлинній трансформації, зменшення кількості або генетично зумовлена відсутність на поверхні НК-клітин інгібіторних рецепторів призводить до їхньої активації. До того ж, ці клітини контролюють не тільки ранні етапи пухлинного процесу, але й поширення пухлини та її метастазування. [3].

Чутливість організму людини до радіоактивного опромінення насамперед обумовлена вразливістю імунної системи та зниженням її здатності до відновлення з віком. Дані щодо впливу іонізуючої радіації на НК-клітини суперечливі. Більшість дослідників повідомляють про зниження кількості або активності цих лімфоцитів, якщо вони піддавалися опроміненню в неактивному стані. Проте існують експериментальні дані, які свідчать про активацію функції НК-клітин відразу після дії опромінення [4, 5]. У літературі немає робіт, в яких би висвітлювався стан ефекторів вродженого імунітету у хворих на ДРЩЗ після РЙТ залежно від віку.

Мета нашого дослідження полягала в про-

веденні порівняльного вивчення впливу РЙТ на динаміку цитотоксичної активності НК-клітин периферичної крові у хворих на ДРЩЗ без віддалених метастазів різних вікових груп.

Матеріали та методи

Досліджували активність НК-клітин у прооперованих хворих на ДРЩЗ без віддалених метастазів, які проходили РЙТ в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комисаренка НАМН України» та «Національному інституті раку МОЗ України». Пацієнти за віком були розподілені на 2 групи. До 1-ої групи увійшли 26 молодих пацієнтів, із них 5 чоловіків і 21 жінка, середній вік яких становив $28,6 \pm 1,1$ року, усі з папілярною карциною, розповсюдженням T_1-T_3 . 11 осіб (42%) мали регіонарні метастази в лімфовузлах ший або середостіння. До 2-ої групи відібрано 33 хворих старшого віку (середній вік $52,6 \pm 1,5$ року), із них 8 чоловіків і 25 жінок, фолікулярна карцинома була в 9 пацієнтів (27%), розповсюдження пухлини T_1-T_3 мали 24 хворих (73%), $T_4 - 9$ осіб (27%), 14 пацієнтів (42%) були з регіонарними метастазами. Більшість хворих обох груп отримали 1-2 курси РЙТ. Дослідження проводили напередодні прийому $Na^{131}I$ (3815-4170 МБк) та через 6 дб, 1, 3 та 6 місяців після РЙТ. Дві контрольні групи склалися з донорів відповідного віку і статі.

Активність НК-клітин визначали модифікованим цитотоксичним методом [6]. Оцінка цитотоксичної активності НК-клітин здійснювалась за допомогою спектрофотометрії. Статистичне опрацювання одержаних даних проводили з використанням комп'ютерних програм Excel, Biostat та t-критерію Стьюдента. Результати оцінювали за рівнем значущості ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Результати нашого дослідження представлені в **таблиці**. Визначення цитотоксичної активності НК-клітин у молодих донорів (середній вік $30,0 \pm 1,3$ року) порівняно з донорами старшого віку (середній вік $46,8 \pm 1,5$ року) не виявило достовірної різниці показника в групах ($35,4 \pm 1,9\%$ проти $31,4 \pm 1,3\%$), що свідчить про відсутність значної вікової залежності цього показника.

Наші результати узгоджуються з даними

літератури, в яких показано, що у практично здорових осіб вміст та активність НК-клітин у периферичній крові є стабільним протягом життя і не має чіткої вікової залежності [7]. Але є дослідження, в якому показано, що вміст певних клонів цих клітин знижується в людей похилого віку [8].

Визначення активності НК-клітин у молодих дорослих хворих на ДРЩЗ, в яких на даний момент не було віддалених метастазів (група 1), дало можливість встановити, що до отримання курсу РЙТ цей показник уже був нижчий за норму на 22%. Проведеними раніше дослідженнями було виявлено, що до оперативного лікування в різних вікових групах дорослих хворих на папілярний РЩЗ активність НК-клітин знижена порівняно зі здоровими донорами [9]. За даними інших авторів, у хворих віком до 45 років із II стадією ДРЩЗ до лікування спостерігається зниження абсолютної кількості CD16+ -НК-клітин, порівняно з I стадією хвороби [10].

Відомо, що в організмі існує інтегральна взаємодія імунної та нейроендокринної систем. Активність НК-клітин також перебуває під впливом тиреоїдного балансу, що було показано в наших експериментальних дослідженнях [11]. У «майже здорових» літніх людей (середній вік $64 \pm 5,2$ року) низька НК-активність корелює зі зниженням рівня трийодтироніну в сироватці крові [12]. У хворих на ДРЩЗ в I стадії перед скануванням всього тіла на 4-7 день після відміни тироксин-супресивної терапії (стан гіпотиреозу) прогресивно знижувався рівень IL-18, sIL-2R та НК-клітин, що вказує на гормональну модуляцію клітинно-опосередкованої імунної відповіді [13]. Зважаючи на це, можна припустити, що причиною пригнічення активності НК-клітин напередодні курсу РЙТ у хворих на ДРЩЗ старшого віку може бути стан гіпотиреозу.

У хворих молодого віку (група 1) активність НК-клітин через 6 діб, 1 та 3 місяці після РЙТ істотно не відрізняється від вихідного значення (тобто напередодні введення радіоізопа). Водночас зберігаються відмінності від контролю. Через 6 місяців спостерігається достовірне підвищення (на 21%) активності НК-клітин порівняно з вихідним значенням, причому до рівня, коли різниця з показником

Таблиця. Динаміка цитотоксичної активності НК-клітин у хворих на ДРЩЗ різних вікових категорій без віддалених метастазів до та після радіоїодотерапії (%), $M \pm m$

Група донорів	Радіоїодотерапія у хворих				
	до курсу	через 6 діб після курсу	через 1 міс. після курсу	через 3 міс. після курсу	через 6 міс. після курсу
(1) 35,4±1,9 n=25	(1) 27,5±1,6 ^a n=26	25,9±1,8 ^a n=22	23,5±2,4 ^a n=16	24,2±1,4 ^a n=13	34,7±2,4 ^b n=7
(2) 31,4±1,3 n=20	(2) 22,5±0,7 ^{ac} n=33	19,1±0,8 ^{abc} n=33	18,2±1,5 ^{abc} n=25	18,1±1,3 ^{abc} n=20	19,1±1,3 ^{abc} n=25

Примітка. ^a – достовірність різниці порівняно з групою донорів ($p < 0,05$); ^b – достовірність різниці порівняно з даними до РЙТ ($p < 0,05$); ^c – достовірність різниці порівняно з пацієнтами молодого віку – група 1 ($p < 0,001$).

групи донорів нівелюється.

На відміну від хворих 1-ї групи, у хворих старшого віку (група 2) впродовж 6-ти місяців після курсу ¹³¹I-терапії спостерігалось зниження активності НК-клітин порівняно з вихідним показником. Причому максимальне пригнічення (на 20%) активності НК-клітин показано через 1 та 3 місяці після РЙТ. Через 6 місяців активність НК-клітин не відновлювалася до вихідного рівня, і була значно нижчою (на 39%), ніж у донорів, що вказує на ушкодження функції НК-клітин у хворих цієї вікової категорії під впливом РЙТ.

При зіставленні активності НК-клітин у хворих різних вікових груп було виявлено, що до РЙТ цей показник у групі 2 нижчий на 18%, ніж у групі 1. Через 6 діб, 1 та 3 місяці після РЙТ активність НК-клітин у групі 2 істотно нижча (до 26%), ніж у групі 1, а через 6 місяців вона значно (на 45%) нижча, ніж у 1-й групі.

Вплив опромінення на лімфоцити, у тому числі, на НК-клітини, може призводити до накопичення функціонально неповноцінних клітин. Результати експериментальних досліджень показали, що після гамма-опромінення невеликою дозою (1-2 Гр) у CD56+ -лімфоцитах виявлялися мікроядра, причому більше, ніж у CD8+ -лімфоцитах, що вказує на радіаційне ушкодження хромосом цих клітин. Разом із тим, CD56+ -лімфоцити проявляли меншу чутливість до апоптозу, ніж CD8+ -лімфоцити [14].

Дозозалежний вплив іонізуючого випромінювання на імунологічні показники був виявлений у учасників ліквідації та постраждалих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, у периферичній крові яких спостерігалось зниження кількості лімфоцитів, їх субпопуляцій, у тому числі CD8-57+ НК-клітин [15]. Про

Оригінальні дослідження

ушкодження лімфоцитів хворих на РЩЗ після РЙТ свідчить збільшення частоти аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові [16]. У хворих на РЩЗ виявлено зниження вмісту НК-клітин після прийому йоду-131 (3700 МБк), причому не тільки в короткий термін (15-30 днів) після курсу РЙТ, але й на 7-й і 15-й день після отримання діагностичної дози (185 МБк), що свідчить про високу радіочутливість цих лімфоцитів [17].

Порівняльний аналіз показав наявність відмінності активності НК-клітин у хворих на ДРЩЗ без віддалених метастазів різних вікових груп. У пацієнтів молодого віку (група 1) протягом 3 місяців після РЙТ функція НК-клітин по відношенню до вихідного значення істотно не змінюється, але через 6 місяців після РЙТ активність цих клітин підвищується. У хворих старшого віку (група 2) активність НК-клітин в усі строки істотно нижча, ніж у групі 1. Значне пригнічення функції НК-клітин після РЙТ у хворих 2-ї групи свідчить про прояв ушкоджувальної дії опромінення на ці ефектори вродженого імунітету саме у хворих старшого віку, яке може відбитися на зниженні захисних можливостей їхнього організму в боротьбі з несприятливими чинниками зовнішнього середовища.

Висновки

1. Цитотоксична активність НК-клітин до РЙТ у хворих на ДРЩЗ без віддалених метастазів різних вікових груп достовірно нижча, ніж у донорів.
2. Цитотоксична активність НК-клітин у молодих хворих на ДРЩЗ протягом 3 місяців після РЙТ не зазнає істотного впливу йоду-131. У термін 6 місяців після РЙТ активність НК-клітин підвищується відносно вихідного значення. На відміну від групи хворих молодого віку, динаміка активності НК-клітин у хворих старшого віку порівняно з вихідним значенням знижується в усі терміни (6 діб, 1, 3 та 6 місяців) після РЙТ.
3. Цитотоксична активність НК-клітин має вікову залежність, оскільки у хворих на ДРЩЗ без віддалених метастазів старшого віку вона достовірно нижча, ніж у хворих молодого віку до та в усі строки після РЙТ.

Література

1. Гарбузов П.И., Дроздовский Б.Я., Родичев А.А. и др. Радиойодтерапия рака щитовидной железы // Практическая онкология. 2007, 8, №1, 42-45.
2. Sisson J.C., Freitas J., McDougall I.R. et al. Radiation safety in the treatment of patients with thyroid diseases by radioiodine 131I: practice recommendations of the american thyroid association // Thyroid. 2011, 21, N4, 335-346.
3. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. К.: Наукова думка. 2005, 792с.
4. Vokurkova D., Sinkora J., Rezacova M. et al. CD8+NK natural killer have a potential of a sensitive and reliable biodosimetrik marker in vitro // Physiol. Res. 2006, 55, N6, 689-698.
5. Kim J.Y., Son Y.O., Park S.W. et al. Increase of NKG2D ligands and sensitivity to NK cell-mediated cytotoxicity of tumor cells by heat shock and ionizing radiation // Exp. Mol. Med. 2006, 38, N5, 474-484.
6. Захарченко Т.Ф., Замотаєва Г.А., Тронько М.Д. Вплив радіойодтерапії на цитотоксичну активність природних кілерних клітин у хворих на рак щитоподібної залози // Журн. АМН України. 2007, 13, №1, 153-158.
7. Hu C., Smeraldi S., Radelli L. et al. Age- and sex-dependent changes in natural killer cell activity // Boll. Ist. Sieroter, Milan. 1987, 66, N4, 289-296.
8. Chidrawar S.M., Khan N., Chan Y.L. et al. Ageing is associated with a decline in peripheral blood CD56bright NK cells // Immun. Ageing. 2006, N 3, 10.
9. Захарченко Т.Ф., Замотаєва Г.А., Тронько М.Д. Порівняльний аналіз цитотоксичності природних клітин кілерів у хворих з доброякісними та злоякісними пухлинами щитоподібної залози до та після лікування // Доповіді НАН України. 2008, №3, 177-182.
10. Хмара И.М. Показатели иммунитета и их динамика у больных дифференцированными формами рака щитовидной железы в ходе комплексной медицинской реабилитации // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2009, №1, 112-120.
11. Захарченко Т.Ф. Цитотоксична активність природних кілерних клітин при експериментальному гіпер- та гіпотиреозі // Ендокринологія. 2000, 5, №2, 191-195.
12. Kmiec Z., Mysliwska J., Rachon D. et al. Natural killer activity and thyroid hormone levels in young and elderly persons // Gerontology. 2001, 47, N5, 282-288.
13. Botella-Caretero J.L., Prados A., Manzano L. et al. The effects of thyroid hormones on circulating markers of cell-mediated immune response, as studied in patients with differentiated thyroid carcinoma before and during thyroxine withdrawal // Eur. J. Endocrinol. 2005, 153, N2, 223-230.

14. Louagie U., Philippe J., Vral A. et al. Induction of micronuclei and apoptosis in natural killer cells compared to T lymphocytes after gamma-irradiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998, 73, N2, 179-185.
15. Базика Д.А., Беляева Н.В., Голярник Н.А. Радіобіологічні закономірності дії низьких та наднизьких рівнів опромінення на організм людини: досвід Чорнобиля // *Журн. АМН України.* 2006, 12, №1, 110-124.
16. Erselcan T., Sungu S., Ozdemir S. et al. Iodine-131 treatment and chromosomal damage: in vivo dose-effect relationship // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2004, N31(5), 676-684.
17. 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, N8, 824-829.

Динамика активности натуральных киллерных клеток у больных раком щитовидной железы различных возрастных групп после радиойодтерапии

Т.Ф. Захарченко¹, Г.А. Замотаева¹, С.В. Гулеватый¹, Д.А. Джужа²

¹ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»;

²Национальный институт рака МЗ Украины

Резюме. Исследовали возрастную зависимость активности НК-клеток у прооперированных больных дифференцированным раком щитовидной железы без отдаленных метастазов накануне и через 6 суток, 1, 3 и 6 месяцев после курса радиойодтерапии (РЙТ). В 1-ю группу вошли 26 молодых пациентов, средний возраст которых был 28,6±1,1 года. Группу 2 составили 33 больных старшего возраста (средний возраст – 52,6±1,5 года). Большинство больных обеих групп получили 1-2 курса РЙТ. Активность НК-клеток определяли в цитотоксическом тесте. Оценку реакции проводили с использованием спектрофотометрии. Было выявлено, что в 1-й группе активность НК-клеток в течение 3 месяцев после РЙТ не имеет существенного отличия относительно исходного значения, через 6 месяцев показатель повышается,

что отличает динамику активности НК-клеток после РЙТ у больных группы 2, у которых она снижена во все сроки после РЙТ. У больных группы 2 динамика активности НК-клеток значительно ниже, чем у больных 1-й группы, что свидетельствует о возрастной зависимости показателя, а также о более низком уровне защитных возможностей НК-клеток.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, радиойодтерапия, активность НК-клеток, возраст больных.

Dynamics of natural killer cell activity in patients with thyroid cancer in different age groups after radioiodine therapy

T.F. Zakharchenko¹, G.A. Zamotayeva¹, S.V. Gulevaty¹, D.O. Dzhuha²

¹State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine»;

²National Institut of Cancer

Summary. The authors were studying the age dependence of NK-cell activity in patients operated on for a differentiated thyroid cancer without distant metastases before and after 6 days, 1, 3, and 6 months of a radioiodine therapy (RIT) course. Group 1 included 26 young patients aged 28.6±1.1 years on average. Group 2 comprised 33 elderly patients 52.6±1.5 years. Most patients in both groups received 1-2 RIT courses. NK-cell activity was determined by a cytotoxic test using spectrophotometry. NK-cell activity in patients of group 1 after 3 months of RIT there was no significant difference in relation to initial value. After 6 months, the rate was restored, which distinguishes the dynamics of NK-cell activity after RIT in patients of group 2, for which this rate was decreased for all periods after RIT compared to initial value. In patients of group 2 the dynamics of NK-cell activity was much lower than in group 1, suggesting an age dependence of the rate, as well as a more significant decrease of NK-cell activity in protective features for fighting the disease and its complications.

Keywords: thyroid cancer, radioiodine therapy, NK-cell activity, age.

(Надійшла 23.07.2012)