Bulletin of Medical Internet Conferences (ISSN 2224-6150)
2015. Volume 5. Issue 6

ID: 2015-06-1276-A-5306 Оригинальная статья

Попков В.М., Фомкин Р.Н., Блюмберг Б.И.

Цитокиновый статус и иммунологические маркеры в ранней диагностике рака простаты

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Ключевые слова: рак простаты

Введение

Ранняя диагностика РПЖ способствует выявлению наибольшего количества пациентов с локализованными формами заболевания, когда еще возможен наиболее эффективный метод лечения – радикальная простатэктомия [1, 5]. Учитывая то, что у 11% мужчин в течение жизни может развиться РПЖ, становится очевидным необходимость своевременной диагностики локализованных форм этой патологии [2, 7]. В последнее десятилетие широкое применение простатспецифического антигена (ПСА) и его производных в клинической практике привело к уменьшению диагностических ошибок, но, несмотря на это еще достаточно часто РПЖ на ранних стадиях остается недиагностированным. Благодаря достижениям клеточной и молекулярной биологии за последние годы был сделан прорыв в области понимания сложных механизмов взаимодействия опухоли и организма [3, 6]. Открылась возможность использовать свойства иммунной системы реагировать на неопластические изменения в организме. Этому во многом способствовало доказательство иммуногенности опухолей, в частности, опухолеассоциированных антигенов, способных индуцировать клеточный и гуморальный иммунные ответы; идентификация и характеристика цитокинов, участвовавших в противоопухолевой защите; раскрытие клеточно-молекулярных механизмов ускользания опухоли от иммунного ответа [8, 10]. Применение для диагностики значения аутоантител при РПЖ может способствовать открытию новых биомаркеров этого заболевания, которые повысят эффективность диагностики этой патологии [4, 9]. Таким образом, высокая частота заболевания и показатели смертности указывают на важность и актуальность поиска новых путей раннего выявления РПЖ, чтобы значительно повысить эффективность лечения данной онкопатологии.

Цель исследования: изучить возможность ранней диагностики рака предстательной железы с помощью новых иммунологических маркеров.

Материалы и методы

Обследованы 126 мужчин с патологией предстательной железы. Эта группа пациентов была набрана для анализа изменений иммунного статуса, характерных для рака предстательной железы, а также для выяснения вопроса, как уровень интерлейкинов соотносится с наличием рака предстательной железы при первичной биопсии. У всех 126 пациентов дополнительно изучали гематологические и биохимические параметры. При этом пациенты были разделены на две группы. Первая группа состояла из больных с ДГПЖ (n=46), вторая группа (n=80) пациентов была с диагностированным раком предстательной железы. У всех обследуемых больных этой группы отсутствовала патология иммунной системы, онкологические заболевания другой локализации, воспалительные процессы в стадии обострения, а также заболевания, в патогенезе которых ведущую роль отводят изменениям в иммунной системе. Диагноз устанавливался только на основании морфологического материала, взятого путем трансректальной мультифокальной двенадцатиточечной биопсии.

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациентов в общей группе составил 64,5±7,2 года; при этом в группе пациентов с РПЖ средний возраст был 65,0±6,7 года, а в группе больных с ДГПЖ – 64,3 ± 7,4 года. Статистически достоверных различий между группами по возрасту (p=0,695) не было выявлено.

Медиана значений ПСА у всех больных составила 9,0 нг/мл (6,3; 16,1); при этом в группе больных, у которых был выявлен рак предстательной железы, медиана значений ПСА составила 14,6 нг/мл (7,0; 42,5). В группе больных, у которых рак не был обнаружен, медиана ПСА составила 8,2 нг/мл (6,1; 14,2). Кроме показателей иммунограммы и уровня интерлейкинов оценивали общеклинические данные.

Результаты биохимического анализа крови не отличались достоверно по всем показателям при сравнении групп. В табл. 1 приведены средние значения показателей в сравниваемых группах.

Таблица 1.Средние значения биохимических показателей в сравниваемых группах пациентов

Показатель	*Среднее ± стандартное отклонение*	
	Группа больных РПЖ	Группа больных ДГПЖ
Белок общ, г/л крови	75,6±9,5	75,1±4,8
АСТ, ед./л	33,0±11,3	30,3±17,6
АЛТ, ед./л	28,8±11,3	31,5±20,1
Сахар, ммоль/л	5,8±1,4	6,0±1,7
Калий, ммоль/л	4,8±0,8	4,4±0,9
Креатинин, мкмоль/л	92,0±18,4	80,3±43,6
Мочевина, ммоль/л	6,6±3,6	11,6±1,7

 © Bulletin of Medical Internet Conferences, 2015

При рассмотрении формулы крови не удалось выявить значимых различий. Процентное количество сегментоядерных нейтрофилов не отличалось в группах. Процент палочкоядерных нейтрофилов был выше в группе больных с РПЖ, различие не было статистически достоверно. Процент эозинофилов был выше в группе пациентов без РПЖ, однако различие не носило статистически достоверный характер. По уровню базофилов группы практически не отличались. В группе больных с РПЖ наблюдались незначительное повышение количества моноцитов и снижение количества лимфоцитов, которые также не носили статистически достоверный характер.

Анализ популяции лимфоцитов при помощи разделения их на группы по кластерам дифференцировки показал отсутствие статистически достоверных различий, кроме CD8 и иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8). Средний процент CD8-лимфоцитов в группе с раком простаты составил 28,7±7,3% и был статистически достоверно выше по данным критерия Стьюдента (P=0,014) и критерия Манна-Уитни (P=0,030), чем в группе без (РПЖ) – 23,4±2,9. Данное изменение, по мнению ряда авторов, является канцероспецифическим для онкологической патологии различной локализации; полученные различия согласуются с данными литературы.

Обратная ситуация наблюдалась при сопоставлении значений иммунорегуляторного индекса в группе больных с (РПЖ) этот показатель составил 1,38±0,29, а в группе без рака – 1,66±0,14, различия были высокодостоверны при использовании параметрического и непараметрического критериев (P=0,002 и P=0,001). Изменений уровня CD16-лимфоцитов, описанного в литературе, нам подтвердить не удалось.

При анализе полученных данных измерений количества CD8-лимфоцитов у всех обследуемых пациентов мы определили пороговое значение уровня CD8. При значении, равном и выше этого значения, в нашей группе были только пациенты с раком предстательной железы. Пороговый уровень был равен 30%.

Однако вывести критическое значение для иммунорегуляторного индекса на основании наших данных невозможно, т.к. это требует значительно больших количественных наблюдений.

Дискриминационные значения количества CD8 лимфоцитов при РПЖ представлены на рис. 1.

На рисунках 2 и 3 изображены полученные данные измерений CD4, CD8 в сравниваемых группах.

Статистический анализ данных при помощи параметрических и непараметрических критериев выявил статистически значимую разницу следующих показателей иммунограммы, связанных с активностью фагоцитов (P<0,05 при использовании обоих критериев): фагоцитарного числа (ФЧ) и теста на нитросинийтетразолий(НСТ). Данные этих различий приведены ниже. Спонтанная миграция и индекс миграции совпадали в обеих группах.

Между группами был проведен также анализ уровня иммуноглобулинов. Обращает на себя внимание уровень иммуноглобулина-А, который имел распределение, отличное от нормального. Медиана его уровня была выше в группе пациентов без РПЖ (2,0 г/л против 1,9 г/л в группе с РПЖ), однако данное различие статистически недостоверно. Средние значения иммуноглобулинов-М и -G практически не отличались в сравниваемых группах.

Средний уровень циркулирующих иммунных комплексов был несколько выше в группе пациентов с РПЖ (107,5 ед. против 92,19 ед. во второй группе), различия не носили статистически достоверный характер.

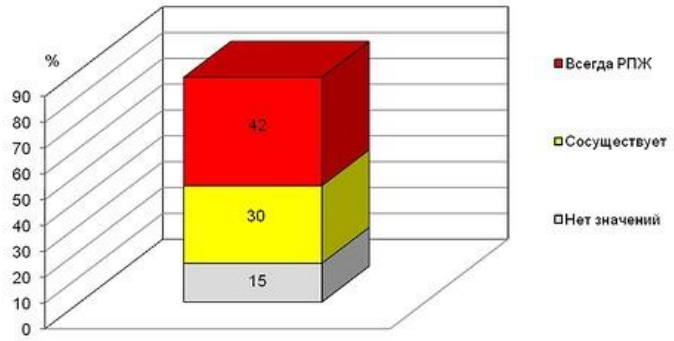

Рис. 1. Дискриминационные значения количества CD8-лимфоцитов при диагностике РПЖ

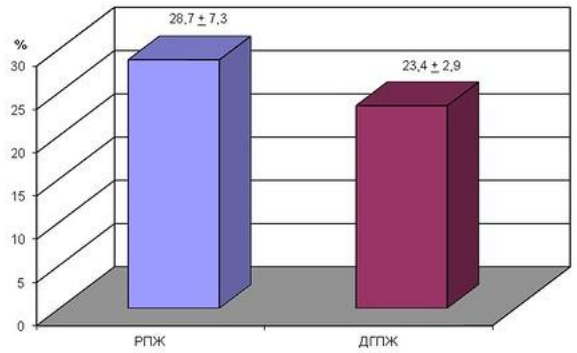

Рис. 2. Количество CD8 лимфоцитов в сравниваемых группах (p<0,05)

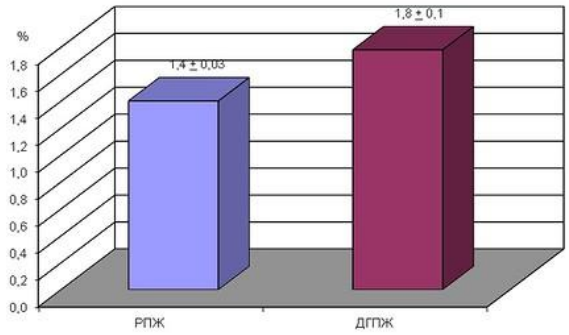

Рис. 3. Иммунорегуляторный индекс CD4/CD8 в сравниваемых группах (p>0,05)

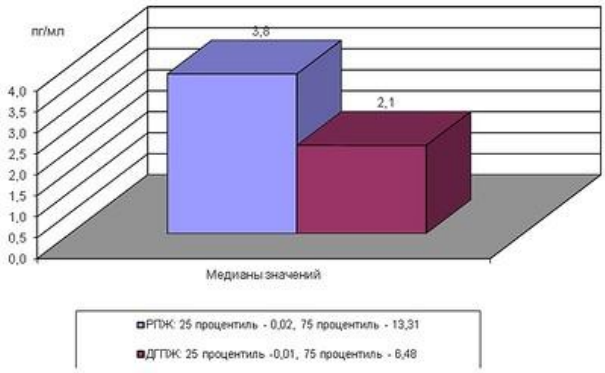

Рис. 4. Уровень ИФГ в сравниваемых группах (p<0,05)

При анализе уровней интерлейкинов в двух группах была отмечена тенденция к возрастанию уровня интерлейкина-2 в группе пациентов с РПЖ. Так, уровень значений интерлейкина-2 был равен 635,9±706,5 пг/мл в группе пациентов с РПЖ в 2 раза выше в исчислении средних значений и в 3 раза был выше в медианах по отношению с группой больных без рака предстательной железы, где уровень значений интерлейкина-2 был соответственно 369,1±572,4 пг/мл. Несмотря на то что на первый взгляд имелись такие значимые различия, разброс значений был слишком велик, и результат оказался статистически не достоверным. Так же и медиана уровня интерлейкина-10 не отличалась в этих двух группах. Соответственно была равна 0,01 пг/мл (25-й процентиль равен 0,01 пг/мл; 75-й процентиль – 8,21 пг/мл) в группе больных с РПЖ и без рака простаты 0,01 пг/мл (25-й процентиль – 0,01 пг/мл; 75-й процентиль – 0,01 пг/мл). Однако среднее значение было многократно выше в группе больных без РПЖ. При анализе уровня интерферона-α наблюдаются более высокие значения медианы и среднего в группе пациентов с раком простаты; так значения в группе с РПЖ равнялись – 11,2 пг/мл (25-й процентиль – 4,8 пг/мл; 75-й процентиль – 11,2 пг/мл), в то время как в группе больных без РПЖ этот показатель был равен – 5,9 пг/мл (25-й процентиль – 3,9 пг/мл; 75-й процентиль – 5,9 пг/мл). Медиана значений фактора некроза опухоли – α совпадала в обеих группах. Среднее значение в группе пациентов с раком предстательной железы было в 2 раза ниже, чем в группе без РПЖ. Все описанные выше различия групп по уровням интерлейкинов не носили статистически значимый характер как при использовании параметрических, так и при использовании непараметрических критериев.

Следует отметить двукратное возрастание уровня γ-интерферона у пациентов с раком, и этот показатель статистически достоверно различался при использовании параметрического критерия Стьюдента (p=0,041)(критерий Манна-Уитни P=0,260). Медиана уровня γ-интерферона у пациентов с раком была 3,76 (25 и 75 перцентили были 0,02 и 13,31 соответственно). Медиана уровня γ-интерферона у пациентов, у которых рак простаты не обнаружили был равен 2,1 (25 и 75 перцентили были 0,01 и 6,48 соответственно). На рис. 4 представлен уровень γ-интерферона в двух группах пациентов.

При анализе данных уровня значений γ-интерферона у всех обследуемых пациентов можно вывести пороговое значение уровня этого показателя, при этом значении и выше которого в нашей группе были только пациенты с раком предстательной железы – 40,36 пг/мл. Эти данные представлены на рис. 5.

Вернемся к описанному выше снижению функциональной активности фагоцитоза при РПЖ, наиболее ярко это проявилось в НСТ – тесте и в снижении фагоцитарного числа (P<0,05), что логично связано со сниженной противоопухолевой защитой у больных с онкологическим процессом в предстательной железе. При этом так же можно вывести критическое значение НСТ-теста, которое будет равно 18%, выше этого значения мы не обнаруживали РПЖ у обследуемых пациентов. Эти данные представлены на рис. 6.

По такому же принципу мы вычислили значения фагоцитарного числа, выше которого у пациентов не обнаруживался рак простаты – это значение было равно 70%. Эти данные представлены на рис. 7.

На рис. 8 и 9 представлены данные значений НСТ – теста и фагоцитарного числа в сравниваемых группах.

Также нами была проверена корреляция между уровнями интерлейкинов и показателями функционального состояния фагоцитов. Такой связи обнаружить не удалось.

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2015

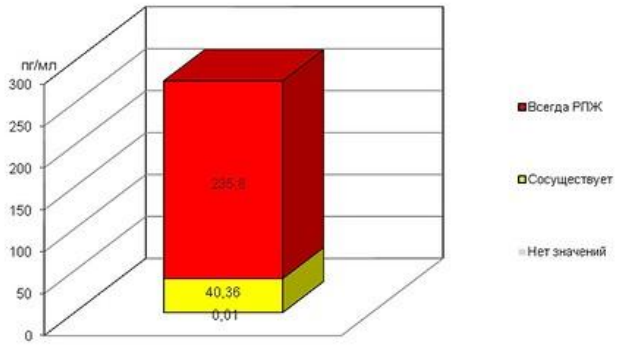

Рис. 5. Дискриминационные значения ИФГ (пг/мл) при диагностике РПЖ.

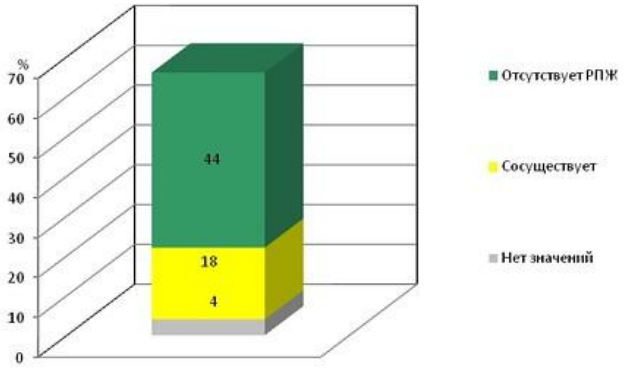

Рис. 6. Дискриминационные значения НСТ-теста(%)при диагностике РПЖ.

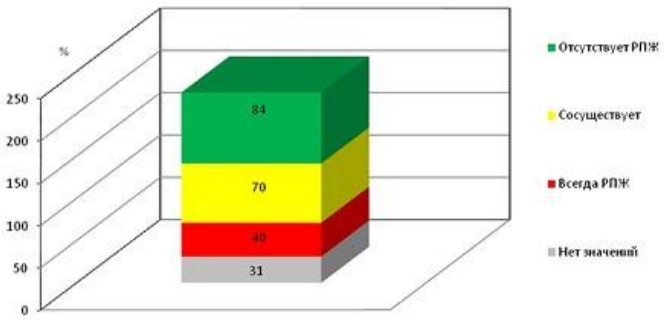

Рис. 7. Дискриминационные значения ФЧ(%) при диагностике РПЖ.

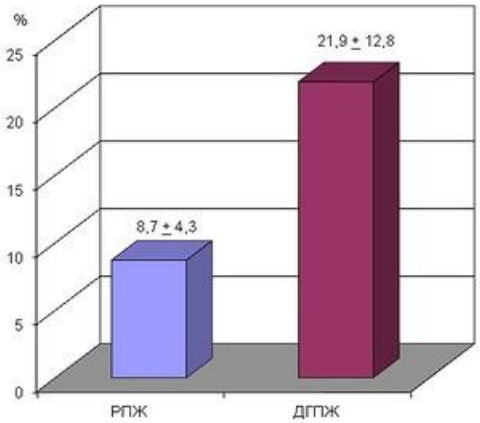

Рис. 8. НСТ в сравниваемых группах (p<0,05).

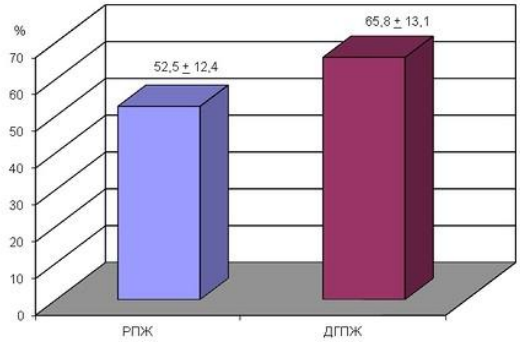

Рис. 9. ФЧ в сравниваемых группах (p<0,05).

Заключение

Таким образом, на основании нашего исследования можно утверждать, что высока вероятность обнаружения при значении уровня γ-интерферон ≥ 40,36 пг/мл и для значения CD8 ≥ 30 %, в то же время РПЖ отсутствует при значении НСТ-теста >18% и ФЧ > 70%.

Повышение числа CD8-лимфоцитов и снижение иммунорегуляторного индекса у больных с РПЖ статистически достоверно. Также статистически достоверен уровень γ-интерферона, который выше у пациентов с раком простаты, выявленным в результате первичной биопсии. Это позволяет сделать вывод об изменении статуса интерлейкинов в сыворотке крови и снижении функциональной активности фагоцитоза у пациентов с раком предстательной железы. На основании полученных данных мы можем утверждать, что происходит не просто не измеряемое изменение иммунного статуса при РПЖ, а конкретные параметры, которые достоверно изменяются при этой патологии. Такими параметрами являются γ-интерферон, количество CD 8 лимфоцитов, НСТ – тест и фагоцитарное число. Это свойство иммунитета может позволить нам использовать его как маркер рака предстательной железы в сочетании со стандартными исследованиями.

Учитывая сложность диагностики РПЖ в зонах от 0 – 10 нг/мл, вышеперечисленные показатели иммунного статуса можно применять в дифференциальной диагностике рака предстательной железы. Особенно ценность метода возрастает при использовании значений ППСАТЗ и иммунологических показателей в решении вопроса о целесообразности выполнения биопсии предстательной железы при значении ПСА от 0-4 нг/мл и от 4 до 10 нг/мл.

Выводы

1. При раке предстательной железы повышается число CD8-лимфоцитов (p<0,05) и снижается иммунорегуляторный индекс, увеличивается уровень значений γ-интерферона (p<0,05); остальные изученные показатели цитокинового статуса остаются неизменными.
2. Рак предстательной железы достоверно сопровождается снижением функциональной активности нейтрофилов, на что указывает снижение показателей теста с нитросинимтетразолием и фагоцитарной активности.
3. У больных с повышенным значением уровня γ-интерферона ≥ 40,36 пг/мл, кластеров дифференцировки лимфоцитов – CD8 ≥30% имеется высокая вероятность обнаружения рака предстательной железы, в то же время у пациентов с увеличенным уровнем показателей теста на нитросинийтетразолий> 18% и фагоцитарного числа > 70% имеется тенденция к отсутствию рака простаты.

Литература

1. Hormone induced morphogenesis and growth: Role of mesenchymal-epithelial interactions /G.R. Cunha, L.W. Chung, J.M. Shannon et al. // Recent Prog. Horm. Res.-2012.- Vol. 39.- P. 559-595.
2. Peehl D.M., Wong S.T., Rubin J.S. KGF and EGF differentially regulate the phenotype of prostatic epithelial cells // Growth Regul.-2011.- Vol. 6.- P. 22-31.
3. Tarle M. Serial measurements of TPS, PSA, PAP and CEA serotest values in treated patients with primary and metastatic prostate cancer // Anticancer Res.- 2010.- Vol. 13.- P. 769-777.
4. Bonkhoff H., Motherby H., Fixemer T. New insights into the role of estrogens and their receptors in prostate cancer // Urol.- 2012.- Vol. 42.- P. 1594-1601.
5. Федосенко К.В., Ковальский Г.Б. Рецепторы андрогенов и эстрогенов предстательной железы в норме, при нодозной гиперплазии, раке и перитуморозной зоне - взаимосвязь с процессами пролиферации и апоптоза // Вопр. онкол.- 2011.- Т. 51.- № 2.- С. 216-218.
6. Григорьев М.Э., Степенский А.Б., Лебедев Д.В. Специфические антигены в скрининге и мониторинге больных раком предстательной железы // Урол.- 2002.- № 2.- С. 50-54.
7. Noldus J., StameyT.A. Limitations of serum prostate specific antigen in predicting peripheral and transition zone cancer volumes as measured by correlation coefficients // J. Urol.- 2011.- Vol. 155.- P. 232-237.
8. Brawer M. K., Partin A. The promise of new serum markers for prostate cancer // Contemp. Urol.-2006.- Vol. 11.- P. 44-75.
9. TPS: a dis criminative parameter between prostate cancer and benign prostatic hypertrophy /J. Marrink, R. Osterom, H. Bonfrer et al.// Europ. J. Cancer.-2012.- Vol. 29.- P. 570-571.
10. Serial TPS antigen determinations in the follow-up of hormone treated carcinoma of the prostate /G. Kramer, G. Steiner, S. Madersbacher et al. // J. Urol.-2010.- Vol. 158.- P. 1446-1451.

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2015