

УДК 616.441-006-033.2:615.849

ТАМАРА ФЕДОРІВНА ЗАХАРЧЕНКО, СЕРГІЙ ВАСИЛЬОВИЧ ГУЛЕВАТИЙ,
ІРИНА ПЕТРІВНА ВОЛИНЕЦЬ

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», Київ

КУМУЛЯТИВНИЙ ВПЛИВ РАДІОЙОДУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ НК-КЛІТИН ТА НЕЙТРОФІЛІВ У ХВОРИХ З ВІДДАЛЕНИМИ МЕТАСТАЗАМИ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Резюме. Визначали функцію показників уродженого імунітету у хворих на диференційований рак щитоподібної залози (ДРЩЗ) із віддаленими легeneвими метастазами (ВМ) молодого і старшого віку, що одержали до 5 курсів радіойодотерапії (РЙТ), а також 5 і більше курсів РЙТ. Виявлено, що цитотоксична активність НК-клітин і метаболічна активність нейтрофілів (НФ) крові у пацієнтів залежить від кумулятивної активності радіойоду. Зі збільшенням кількості курсів РЙТ активність НК-кліток і НФ знижується. Метаболічна активність НФ більшою мірою знижується у хворих старшого віку.

Ключові слова: віддалені метастази раку щитоподібної залози, радіойодотерапія, активність НК-клітин, метаболічна активність нейтрофілів, вік пацієнта.

За допомогою методу біодозиметрії, яка базується на підрахунку хромосомних аномалій в лімфоцитах, було з'ясовано, що після проведення 1-го курсу радіойодотерапії (РЙТ) в дозі 3,7 Гбк (100 мКі) клітини кісткового мозку та периферичної крові хворого на диференційований рак щитоподібної залози (ДРЩЗ) отримують дозу близько 0,5 Гр. У процесі лікування віддалених метастазів, коли хворий може отримувати 10 і більше курсів РЙТ, доза опромінення накопичується. При цьому сумарна кумулятивна активність йоду-131 може перевищувати 40 Гбк. У місцях розташування осередків гіперфіксації радіоізоотопу можливе ушкодження здорової тканини. Так, у хворих із дифузними легeneвими метастазами, які добре накопичують радіойод, займають більшу частину паренхіми з розгалуженим кровопостачанням, існує загроза значного опромінення легеневої тканини та клітин циркулюючої крові. До того ж, в умовах тиреоїдектомії, відміни гормонотерапії та стану гіпотиреозу для кращого накопичення йоду-131 пухлинними клітинами, а також у випадку розвитку радіорезистентності в процесі лікування метастазів збільшується термін циркуляції йоду-131 у крові. Хворі з наявністю віддалених метастазів та високим ризиком рецидиву метастазів ДРЩЗ потребують частішого спостереження із застосуванням ¹³¹I-сцинтиграфії. Все це збільшує дозу опромінення клітин імунної системи [1].

Як відомо, лімфоцити гинуть у фазі спокою (інтерфазі) після опромінення у дозі від 0,5 до 3 Гр. В основі інтерфазної загибелі лежить розвиток апоптозу. При дозі 1 Гр лімфоцити крові та периферичних

органів ушкоджуються, а в діапазоні від 4 до 6 Гр кількість лімфоцитів значно зменшується протягом перших 3–4 діб. Загибель лімфоцитів на стадії мітозу з нерепарованим ушкодженням ДНК та хромосомного апарату відбувається у формі некрозу [2].

В експерименті показано, що радіоактивне випромінювання у низькій дозі (від 1 до 2 Гр) стимулює утворення мікроядер у CD56⁺-лімфоцитах (natural killer cells, НК-клітини), причому частіше, ніж у CD8⁺-лімфоцитах, які більш чутливі до апоптозу [3]. Поява мікроядер, що свідчить про ураження ДНК, ушкодження хромосом (розриви, втрати), зниження інтенсивності апоптозу уражених клітин можуть спричинити до виникнення функціонально «неповноцінних» форм. Як свідчать дані літератури, дозозалежний апоптоз CD3⁺CD8⁺/56⁺-НК-клітин у культурі спостерігався після опромінення у більших дозах (від 3 до 20 Гр) [4]. У хворих на ДРЩЗ після РЙТ у лімфоцитах також виявляються мікроядра та хромосомні аберрації [5].

Нелімфоїдні клітини імунної системи такі, як лімфобластичні нейтрофіли (НФ), макрофаги, дендритні клітини, є менш чутливими до радіації, ніж лімфоцити [6]. Однак їх попередники (мієлоїдні клітини кісткового мозку), перебуваючи в стані інтенсивного поділу, є надзвичайно чутливими до радіації. Опромінення в дозах понад 1 Гр призводить до їхнього ушкодження, що в подальшому проявляється у зниженні чисельності зрілих клітин. У клітин, які вижили, можуть бути порушені функції [7].

НК-клітини, НФ та інші клітини системи уродженого імунітету безпосередньо беруть участь у захисті організму (особливо на ранніх його етапах) від

© Т. Ф. Захарченко, С. В. Гулеватий, І. П. Волинець, 2016

інфікованих та пухлинних клітин та, продукуючи цитокіни, виконують регуляторну функцію в організмі.

Метою дослідження було визначення цитотоксичної активності НК-клітин та метаболічної активності НФ крові у хворих на ДРЩЗ з віддаленими легневими метастазами різного віку залежно від кількості курсів РЙТ.

Визначення цитотоксичної активності НК-клітин та метаболічної активності НФ проводили у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами молодого (1) та старшого (2) віку. Хворі обох вікових груп були розподілені залежно від отриманої кількості курсів РЙТ на 2 групи: група А (до 5 курсів РЙТ) та група Б (5 і більше курсів РЙТ). Активність йоду-131 на 1 курс становила від 3700 до 6070 МБк. Група А складалася з хворих віком від 12 до 39 років (середній вік $22,8 \pm 1,3$ р.), усі з папілярною карциномою (1) та хворих віком від 41 до 73 р. (середній вік $52,8 \pm 1,5$ р.), 56 % з них мали фолікулярну карциному (2). До групи Б увійшли хворі віком від 14 до 39 р. (середній вік $28,4 \pm 1,7$ р.) з папілярною карциномою у 90 % (1) та хворі віком від 41 до 74 років (середній вік $52,8 \pm 1,5$ р.), 37 % з яких мали фолікулярну карциному (2). Дослідження у хворих проводили напередодні курсу РЙТ. Термін, який минув від попереднього курсу РЙТ, становив від 6 до 8 міс. Дві контрольні групи склалися з донорів відповідного віку.

Цитотоксичну активність НК-клітин проти індикаторних клітин-мішеней визначали, використовуючи спектрофотометрію [8]. Метаболічну активність НФ досліджували у стандартному тесті відновлення НСТ (нітросиній тетразолій). Статистичне опрацювання одержаних даних проводили за допомогою параметричних методів із використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel, BioStat. Результати оцінювали за критерієм (t) Стьюдента та рівнем значущості ($p < 0,05$).

Результати дослідження цитотоксичної активності НК-клітин у хворих на ДРЩЗ різного віку з віддаленими метастазами залежно від кількості курсів РЙТ представлені в таблиці 1. Активність НК-клітин у хворих молодого віку, які отримали до п'яти курсів РЙТ (група А), була нижча за норму в 1,4 разу, у хворих,

які отримали 5 і більше курсів РЙТ (група Б) — нижча в 1,9 разу. У хворих старшого віку активність НК-клітин у групі А була нижча за норму в 1,6 разу, а у хворих групи Б — нижча у 2 рази. Тобто у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами обох вікових груп, які отримали 5 і більше курсів РЙТ, показник активності НК-клітин нижчий у порівнянні з контролем, ніж у хворих, які отримали до п'яти курсів РЙТ.

Аналізуючи активність НК-клітин у групі А з урахуванням віку хворих, було виявлено, що цей показник у хворих старшого віку (група 2) нижчий на 24% відносно групи хворих молодого віку (група 1). У хворих групи Б показник активності НК-клітин нижчий на 20 % у групі старшого віку, ніж у групі молодого віку. Можливо, на цю різницю вплинуло те, що у хворих старшого віку кількість курсів більша, ніж у хворих молодого віку. Крім того, у хворих старшого віку вищий відсоток осіб з фолікулярною карциномою ЩЗ, яка менш диференційована, може бути більш радіо-резистентною і потребувати більшої кількості курсів РЙТ, ніж папілярна карцинома ЩЗ.

Порівняння показника активності НК-клітин у групах хворих, за кількістю курсів РЙТ показало, що у хворих групи Б молодого віку (1), активність НК-клітин нижча (на 25%), ніж у групі А. У хворих групи Б старшого віку (2) активність цих клітин нижча (на 22%), ніж у групі А. Це вказує на те, що зі збільшенням кількості курсів РЙТ активність НК-клітин знижується незалежно від віку. Різниця цього показника між групами А і Б є незначною в обох вікових групах. Однак у хворих 2-ї вікової групи показники нижчі, ніж у 1-ї вікової групи, хоча у хворих і молодого, і старшого віку групи А майже однакова кількість проведених курсів РЙТ. Імовірно, це можна пояснити станом хворих старшого віку, здатністю до відновлення імунологічних показників організму в умовах опромінення.

Було також проведено дослідження метаболічної активності НФ у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами з різною кількістю курсів РЙТ. Результати дослідження представлені в таблиці 2. Виявлено, що у хворих молодого віку (1) групи Б активність НФ нижча на 29 %, ніж у групі А. Разом з тим

Таблиця 1

Цитотоксична активність НК-клітин у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами різного віку залежно від кількості курсів радіойодотерапії ($M \pm m$)

Група	Група донорів	Група хворих А		Група хворих Б	
		Кількість курсів РЙТ (середнє значення)	Активність ЗНК-клітин (ІЦ, %) n = 33 $p_1 < 0,001$	Кількість курсів РЙТ (середнє значення)	Активність НК-клітин (ІЦ, %) n = 19 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Молодого віку (1)	$35,4 \pm 1,9$ n = 25	$2,0 \pm 0,3$	$25,0 \pm 1,1$ n = 33 $p_1 < 0,001$	$7,7 \pm 0,4$	$18,7 \pm 1,4$ n = 19 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Старшого віку (2)	$31,4 \pm 1,3$ n = 20	$2,4 \pm 0,2$	$19,0 \pm 1,0$ n = 25 $p_1 < 0,001$	$8,5 \pm 0,4$	$14,9 \pm 0,7$ n = 32 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$
	$p_3 > 0,05$	$p_3 > 0,05$	$p_3 < 0,001$	$p_3 < 0,001$	$p_3 < 0,01$

Примітка. Різниця вірогідності порівняно: p_1 — з групою донорів; p_2 — з групою А; p_3 — з групою (1); ІЦ — індекс цитотоксичності.

Метаболічна активність нейтрофілів у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами різного віку залежно від кількості курсів радіоїодотерапії (M ± m)

Група хворих	Група А		Група Б	
	Кількість курсів РІТ (середнє значення)	Метаболічна активність нейтрофілів (%)	Кількість курсів РІТ (середнє значення)	Метаболічна активність нейтрофілів (%)
Молодого віку (1)	2,0 ± 0,2	22,3 ± 1,5 n = 30	7,7 ± 0,4	15,8 ± 0,9 n = 18 p ₁ < 0,01
Старшого віку (2)	1,7 ± 0,2	21,7 ± 1,6 n = 6	9,9 ± 0,9	13,8 ± 0,9 n = 10 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,05
	p ₂ > 0,05	p ₂ > 0,05	p ₂ < 0,05	

Примітка. Різниця вірогідності порівняно: p₁ — з групою А; p₂ — з групою (1).

показники активності НФ у хворих молодого віку обох груп нижчі у порівнянні з донорами (32,7 ± 1,9 %).

У хворих старшого віку (2) групи Б активність НФ нижча (на 36 %), ніж у групі А. Тобто, у хворих старшого віку різниця показника активності НФ між групами А і Б є більшою, ніж у хворих молодого віку. До того ж, середня кількість курсів РІТ у групі Б старшого віку також більша, ніж у хворих молодого віку. Все це вказує на збільшення вразливості функції цих клітин у хворих старшого віку зі збільшенням дози опромінення.

Метаболічна активність НФ у хворих групи А старшого віку не має статистично значущої різниці від показника у хворих молодого віку. Середня кількість курсів РІТ у хворих цих груп статистично не відрізняється. У хворих групи Б старшого віку показник активності цих клітин дещо знижений у порівнянні з групою хворих молодого віку. Можливо, на рівень активності НФ у групі 2 впливає більша кількість курсів РІТ, ніж у групі 1.

Про негативний вплив радіоїоду на клітини імунної системи свідчать і дані літератури. Так, після неодноразового проведення РІТ у хворих на ДРЩЗ виявлялися випадки виникнення злоякісних пухлин іншої локалізації (молочної залози, матки, нирок, кісток, слинних залоз, ободової та прямої кишки тощо) [9]. Однією з причин пухлинного процесу у хворих, які лікуються радіоїодом, може бути розвиток радіоїодіндукованих функціональних порушень клітин, у тому числі недостатньої активності ефektorів уродженого імунітету [10].

Одержані дані узгоджуються з результатами дослідження інших авторів, в яких показано, що лікування радіоїодом призводить до істотного зниження кількості Т-лімфоцитів, їх субпопуляцій, що особливо виражено у пацієнтів дитячого віку, які приймали супресивні дози L-тироксину, пройшли 5–14 курсів РІТ і отримали найбільшу сумарну дозу йоду-131 — (27,5±1,73) ГБк [11].

Виявлений нами значно нижчий показник функції НФ у хворих зі значною кількістю курсів РІТ може бути спричинений порушенням процесу дозрівання та диференціювання клітин у кістковому мозку, про що свідчить повідомлення про випадки хронічної лейкемії у хворих на РЩЗ, яким було введено значну кумулятивну активність йоду-131 з метою лікування віддалених метастазів [12].

Діючи на клітини кісткового мозку, які найбільш чутливі до радіації, опромінення порушує нормальний процес мієлопоезу, зокрема гранулопоезу. При цьому збільшується утворення незрілих форм, які неспроможні повноцінно виконувати свої функції. В експерименті було показано, що ікс-опромінення в дозі 2 Гр знижує дозрівання CD34⁺-клітин-попередників кісткового мозку, кількість НФ та рівень продукції розчинних форм оксигену у відповідь на стимуляцію рекомбінантним гранулоцитарним колонієутворювальним фактором (rhG-CSF) [7]. Дослідження клітин крові, проведені іншими авторами у хворих на РЩЗ, показали, що після лікування йодом-131 у цих хворих знижувалася кількість лейкоцитів та тромбоцитів крові, причому у деяких з них — значною мірою [13].

Отже, в результаті дослідження було виявлено, що у хворих на ДРЩЗ із віддаленими метастазами різних вікових груп активність НК-клітин залежить від кількості курсів РІТ. Зі збільшенням кількості курсів РІТ активність НК-клітин у хворих на ДРЩЗ різного віку з віддаленими метастазами знижується. У хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами старшого віку активність НК-клітин нижча, ніж у хворих молодого віку. Метаболічна активність НФ у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами, які пройшли 5 і більше курсів РІТ, нижча, ніж у хворих, які пройшли до п'яти курсів РІТ. Зі збільшенням кількості курсів РІТ показник метаболічної активності НФ знижується у хворих на ДРЩЗ з віддаленими метастазами старшого віку більшою мірою, ніж у хворих молодого віку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sisson J. C., Freitas J., McDougall I. R. et al. // *Thyroid*. — 2011. — Vol. 21, N 4. — P. 335–346.
2. Коляда Т. И., Брусник С. В., Андреева И. Д. и др. // *Annals of Mechnicov Institute*. — 2007. — N 3. — P. 17–22.
3. Louagie U., Philippe J., Vral A. et al. // *Int J Radiat Biol*. — 1998. — Vol. 73, N 2. — P. 179–185.
4. Vokurkova D., Sinkora J., Rezacova M. et al. // *Physiol Res*. — 2006. — Vol. 55, N 6. — P. 689–698.
5. Joseph L. J., Bhartiya U. S., Raut Y. S. et al. // *Mutat. Res*. — 2009. — Vol. 675, N 1/2. — P. 35–40.
6. Wilkins R. C., Wilkinson D., Maharay H.P. et al. // *Mutat Res*. — 2002. — Vol. 513, N 1/2. — P. 27–36.
7. Katsumori T., Yoshinc H., Hayashi M. et al. // *Biol Pharm Bull*. — 2009. — Vol. 32. — N 11. — P. 1849–1853.
8. Захарченко Т. Ф., Замотаєва Г. А., Тронько М. Д. // Журн. АМН України. — 2007. — Т.13, № 1. — С. 153–158.
9. Tubiana M. // *Radiother. Oncol*. — 2009. — Vol. 91, N 7. — P. 4–9.
10. Захарченко Т. Ф., Замотаєва Г. А., Гулеватий С. В. та ін. // Пробл. ендокрин. патології. — 2015. — № 2. — С. 35–41.
11. Воронцова Т. В., Шаврова Е. Н., Кучинская С. В. и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2001. — № 2. — С.38–45.
12. Wang K. L. // *J. Clin. Med. Assoc*. — 2005. — Vol. 68, N 5. — P. 230–233.
13. Molinaro E., Leboeuf R., Shue B. et al. // *Thyroid*. — 2009. — Vol. 19, N 10. — P. 1035–1041.

Стаття надійшла до редакції 16.03.2016.

Т. Ф. ЗАХАРЧЕНКО, С. В. ГУЛЕВАТЫЙ, И. П. ВОЛЫНЕЦ

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины», Киев

КУМУЛЯТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ РАДИОЙОДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НК-КЛЕТОК И НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ С ОТДАЛЕННЫМИ МЕТАСТАЗАМИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. Определяли функцию показателей врожденного иммунитета у больных дифференцированным раком щитовидной железы (ДРЩЖ) с отдаленными легочными метастазами молодого и старшего возраста, которые получили до 5 курсов радиоiodтерапии (РЙТ), а также получили 5 и больше курсов РЙТ. Выявлено, что цитотоксическая активность НК-клеток и метаболическая активность нейтрофилов (НФ) крови у больных зависит от кумулятивной активности радиоiodа. С увеличением количества курсов РЙТ активность НК-клеток и НФ снижается. Метаболическая активность НФ снижается в большей степени у больных старшего возраста.

Ключевые слова: отдаленные метастазы рака щитовидной железы, радиоiodтерапия, активность НК-клеток, метаболическая активность нейтрофилов, возраст.

T. F. ZAKHARCHENKO, S. V. GULEVATYI, I. P. VOLYNETS

SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl. Acad. Med. Sci. Ukraine», Kyiv

THE CUMULATIVE EFFECT OF RADIOIODINE ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF NK-CELLS AND NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH DISTANT METASTASES DIFFERENTIATED THYROID CANCER

Summary. Defines the function of the innate immune parameters in patients with differentiated thyroid cancer (DTC) with distant metastases to lungs (LM) of the young and older, who obtained to 5 courses of radioiodine therapy (RIT), and that obtained 5 or more courses of RIT. It was revealed that the cytotoxic activity of NK-cells and metabolic activity of neutrophils (NF) the blood of patients depends on the cumulative activities of radioiodine. With increasing number of courses RIT NK-cell activity and the NF is reduced. Metabolic activity of NF is reduced to a greater extent in elderly patients.

Keywords: distant metastases of thyroid cancer, radioiodine therapy, the activity of NK-cells, the metabolic activity of neutrophils, age.

Контактна інформація:

Захарченко Тамара Федорівна

канд. біол. наук, ст. наук. співроб. лабораторії ендокринної регуляції імунотенезу ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комисаренка НАМН України», Київ

вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна

тел.: +38 (044) 254-13-98

zatam@ukr.net