

*В.А. БЕЗРУК, Л.Л. ВОРОНЦОВА*

## **ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ НА СОСТОЯНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОРТАННОЙ ЧАСТИ ГЛОТКИ**

*Каф. клин. лабораторной диагностики ГЗ «Запорожская  
медицинская академия последипломного образования МЗ Украины»*

Процесс развития злокачественной опухоли, по существу представляет собой процесс ремоделирования ткани, в котором нормальная ткань в результате нескольких стадий превращения заменяется опухолевой тканью. Благодаря наличию в организме защитных факторов, которые в норме сбалансированы и эффективно препятствуют развитию опухолей, возникновение новообразований блокируется на начальных стадиях развития. Одним из таких защитных факторов является иммунная система [5].

Иммунная система играет ключевую роль в обеспечении восстановления гомеостаза организма и минимизации последствий практически любого патологического процесса, исход которого во многом зависит от адекватного функционирования различных звеньев иммунитета [8].

Иммунная система благодаря наличию механизмов противоопухолевой защиты играет важную роль в поддержании противоопухолевого иммунитета. Известно, что у пациента с онкологическими заболеваниями часто снижается способность к образованию антител против различных бактериальных, грибковых и вирусных антигенов [2]. Это может стать основой для формирования у них нарушений гуморальных иммунных механизмов, участвующих в нейтрализации и клиренсе эндотоксина. Эндотоксин является основным структурным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий и относится к числу

облигатных компонентов естественной среды обитания человека [9]. Антиэндотоксиновые антитела, которые в определенных количествах всегда присутствуют в крови, играют важную роль в нейтрализации биологической активности и клиренсе эндотоксина, попадающего по тем или иным причинам во внутреннюю среду организма. Дисфункция гуморального звена эндотоксин-связывающей системы может создавать предпосылки для проявления эндотоксиновой агрессии – феномена, обусловленного повышенным поступлением эндотоксина в системный кровоток на фоне недостаточности эндотоксин-связывающих систем [10].

Особый интерес (в связи с недостаточной изученностью) представляет выявление характера иммунологической реактивности и изменений в состоянии эндотоксин-антиэндотоксиновой системы у онкологических больных. Остаются неизвестными механизмы иммунной реактивности, развивающейся в зависимости от количества кишечного эндотоксина – липополисахарида, который может приводить как к ее активации, так и супрессии. Сведения о состоянии гуморального звена эндотоксин-антиэндотоксиновой системы у пациентов с онкологической патологией представлены лишь фрагментарными исследованиями [1].

Цель работы: установить влияние эндотоксина грамотрицательных бактерий кишечной микрофлоры на состояние клеточного иммунитета у больных с доброка-

чественными и злокачественными опухолями гортанной части глотки.

### **Материалы и методы**

Нами было обследовано 20 доноров и 40 больных, которые были подразделены на две группы: 2-я группа – 20 человек с доброкачественными опухолями гортанной части глотки и 3-я группа – 20 лиц с диагностированными злокачественными новообразованиями гортанной части глотки у гистологически подтвержденным диагнозом – плоскоклеточная форма рака.

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов проводилось с использованием моноклональных антител к антигенам CD<sub>3</sub><sup>+</sup> (Т-лимфоциты), CD<sub>4</sub><sup>+</sup> (Т-хелперы), CD<sub>8</sub><sup>+</sup> (Т-супрессоры), CD<sub>16</sub><sup>+</sup> (NK-клетки), CD<sub>22</sub><sup>+</sup> (В-лимфоциты), а также путем расчета иммунорегуляторного индекса – CD<sub>4</sub><sup>+</sup> / CD<sub>8</sub><sup>+</sup> [6, 11].

Для оценки нарушений иммунной системы использовался универсальный метод, разработанный проф. А.М. Земсковым [3]. Степень иммунных расстройств рассчитывалась по предложенной формуле автора:

$$\left( \frac{\text{Показатель конкретного больного}}{\text{Показатель, принятый за норму}} - 1,0 \right) \times 100,0$$

В случае получения положительных значений оценивалась степень активации (стимуляции) иммунной системы, при отрицательных значениях – степень иммунной недостаточности. Если полученные значения лежат в интервале 1-33 % – это соответствует первой (I) степени иммунных расстройств, от 34 до 66 % – второй (II) степени, в пределах 67-100 % и выше – третьей (III) степени иммунных расстройств.

Определение суммарной концентрации эндотоксина грамотрицательных бактерий в сыворотке крови в EU/ml (международная единица активности) осуществлялось при помощи Микро-ЛАЛ-теста (Патент РФ № 2169367) [4].

Определение интегральных показателей активности гуморального звена эндотоксин-антэндотоксиновой системы осуществлялось при помощи метода «СОИС ИФА» (Патент РФ № 2011993) [7].

Статистический анализ данных проводился по общепринятой методике – мето-

дом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ «Excel». Вычислялось среднее арифметическое (M) и ошибка средней (m). Достоверность результатов исследования оценивалась по 1-критерию Стьюдента. Сравнительный результат считался достоверным при P<0,05.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

В результате исследования было выявлено, что у больных 2-й группы (с доброкачественными опухолями) общая концентрация эндотоксина превышала значения у доноров на 1084 %, а в 3-й группе (со злокачественными опухолями) – на 1268 % (табл. 1).

Титр антител к гликолипиду (At к ГЛП) был снижен относительно значений у доноров во 2-й группе на 49 %, а в 3-й группе отмечалась лишь тенденция к увеличению на 7 %. Титр антител к общему антигену энтеробактерий (At к ОЭА) во 2 и 3-й группах больных был снижен относительно показателя у доноров на 15 % и 11%, соответственно.

У больных 3-й группы общая концентрация эндотоксина превышала аналогичные показатели во 2-й группе на 115 %, титр антител к ГЛП был увеличен на 68 %, титр антител к ОЭА практически соответствовал значениям во 2-й группе (тенденция к увеличению составляла 5 %).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что у больных с доброкачественными опухолями наблюдается снижение процентного содержания зрелых Т-лимфоцитов (CD<sub>3</sub><sup>+</sup>) на 57 % относительно группы доноров и на 36% относительно группы со злокачественными новообразованиями. Также отмечается тенденция к снижению Т-лимфоцитов с хелперной функцией (CD<sub>4</sub><sup>+</sup>) на 40% и 55%, соответственно. Уровень Т-лимфоцитов с супрессорной функцией (CD<sub>8</sub><sup>+</sup>) уменьшен на 20 % относительно доноров и на 69 % относительно группы со злокачественными новообразованиями, содержание NK-клеток (с фенотипом CD<sub>16</sub><sup>+</sup>) - на 26 и 266 %, соответственно. Уровень CD<sub>22</sub><sup>+</sup> снижается на 51 % как относительно 1-й, так и 3-й группы (табл. 2).

Таблица 1

Состояние эндотоксин-антиэндотоксиновой системы у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями гортанной части глотки

Обследуемые группы	Концентрация ЭТ EU/ml	At к ГЛП, у.е.о.п.	At к ОЭА, у.е.о.п.
Доноры (n=20)	0,19 ± 0,03	195,0 ± 2,2	389,3 ± 0,8
Доброкачественные опухоли (n=20)	2,25 ± 0,10*	119,0 ± 1,4*	331,5 ± 4,7*
Злокачественные опухоли (n=20)	2,60 ± 0,20***	201,0 ± 1,3*	349,8 ± 3,9*

Примечания: \* - достоверная разница (P<0,05) относительно группы доноров; \*\* - достоверная разница (P<0,05) относительно группы с доброкачественными опухолями

Таблица 2

Состояние Т- и В-клеточного иммунитета у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями гортанной части глотки

Исследуемый показатель	Доноры n = 20	Опухоли	
		доброкачественные n = 20	злокачественные n = 20
содержание изучаемых показателей (M±m)			
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> , %	65,3 ± 1,3	28,1 ± 1,0*	44,2 ± 1,7**
CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> , %	39,3 ± 1,2	23,6 ± 1,3*	36,7 ± 1,1**
CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> , %	32,6 ± 1,1	26,1 ± 0,9*	44,3 ± 2,2***
CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>	1,2 ± 0,5	0,9 ± 0,01	0,8 ± 0,07
CD <sub>16</sub> <sup>+</sup> , %	18,1 ± 1,0	13,4 ± 0,9*	49,1 ± 2,7***
CD <sub>22</sub> <sup>+</sup> , %	22,3 ± 1,2	11,1 ± 0,7*	17,4 ± 0,5

Примечания: \* - достоверная разница (P<0,05) относительно группы доноров; \*\* - достоверная разница (P<0,05) относительно группы с доброкачественными опухолями

Таким образом, в процессе исследования Т-и В-клеточной системы в группе больных со злокачественными и доброкачественными опухолями гортанной части глотки было выявлено снижение содержания общего количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций, что можно расценивать как проявление вторичного иммунодефицита, но для 2-й группы было характерно резкое снижение CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> и CD<sub>16</sub><sup>+</sup>, а для 3-й группы – резкое повышение уровней CD<sub>8</sub><sup>+</sup> и CD<sub>16</sub><sup>+</sup>, что свидетельствует о достаточно сильном противоопухолевом действии иммунной системы, направленном на борьбу со злокачественными клетками.

Для оценки степени расстройств иммунной системы у больных с доброкачественными опухолями на основании полученных результатов было выявлено следующее соотношение: CD<sub>3</sub><sup>+2</sup> - CD<sub>4</sub><sup>+2</sup> - CD<sub>8</sub><sup>+1</sup> - CD<sub>16</sub><sup>+1</sup> -

CD<sub>22</sub><sup>+2</sup>, что позволило выявить у них I-II степень иммунных расстройств с преимущественным снижением CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup> и CD<sub>22</sub><sup>+</sup>.

Для пациентов со злокачественными новообразованиями на основании полученных данных были выведены следующие показатели расстройств иммунной системы: CD<sub>3</sub><sup>+2</sup> - CD<sub>4</sub><sup>+1</sup> - CD<sub>8</sub><sup>+2</sup> + CD<sub>16</sub><sup>+3</sup> + CD<sub>22</sub><sup>+1</sup> -, что соответствовало II степени иммунологической недостаточности, с преимущественным увеличением CD<sub>8</sub><sup>+</sup> и CD<sub>16</sub><sup>+</sup>, что свидетельствует о достаточно сильном противоопухолевом действии иммунной системы.

Таким образом, у больных со злокачественными и доброкачественными опухолями гортанной части глотки в процессе исследования было выявлено снижение содержания общего количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций, а также В-лимфоцитов. Полученные результаты свидетельствуют о

проявлении вторичного иммунодефицита с одинаковой степенью иммунной недостаточности, но с различными субпопуляционными изменениями.

### **Выводы**

1. Как при доброкачественном, так и при злокачественном течении опухолевого процесса отмечено значительное увеличение общей концентрации эндотоксина в кровяном русле.

2. У больных с доброкачественными опухолями повышение концентрации эндотоксина происходит на фоне недостаточности гуморального звена антиэндотоксинового иммунитета, что свидетельствует о раз-

витии хронической эндотоксиновой агрессии.

3. У пациентов со злокачественными опухолями гортанной части глотки отмечалось резкое увеличение общей концентрации эндотоксина на фоне повышения титра антител к ГЛП при снижении титра антител к ОЭА, что позволяет заподозрить развитие подострой эндотоксиновой агрессии.

4. Наличие иммунодефицитного состояния, скорее всего, является следствием эндотоксиновой агрессии и объясняется накоплением в крови эндотоксинов в количествах, превышающих эндотоксин-связывающие возможности крови, что приводит к резкому истощению иммунной системы.

1. Антиэндотоксиновый иммунитет у больных гемобластозами / Ан.И. Гордиенко, Ал.И Гордиенко, Г.Н. Дранник [и др.] // Вестник гематологии. – 2008. – IV, № 3. – С. 30-35.
2. Гриневич Ю.А. Основы клинической иммунологии опухолей / Ю.А. Гриневич, Л.Я. Каме-нец. – К.: Здоров'я, 1986. – 160 с.
3. Земсков В. М. Принципы дифференцированной иммунокоррекции / В. М. Земсков, А. М. Земсков // Иммунология. – 1996. – № 3. – С. 4-6.
4. Зинкевич О.Д., Аниховская И.А., Яковлев М.Ю. и др. Патент РФ № 2169367. («Микро-ЛАЛ-тест»). «Способ определения активности эндотоксина».
5. Система протеолиза, апоптоза и антиэндоток-синовый иммунитет у больных с злокаче-ственными новообразованиями / В.А. Кубыш-кин, А.И. Крадинов, В.В. Опрышко [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2009. – Т. 12, № 4 (48). – С. 95-103.
6. Номенклатура антигенов CD (кластеров диф-ференцировки лейкоцитов) на ноябрь 1994 г. // Гемат. и трансфузол. – 1994. – Т. 39, № 6. – С. 45-48.
7. Уразаев Р.А., Яковлев М.Ю., Аниховская И.А. и др. // Патент РФ № 2011993. – 1994. «Способ оценки резистентности организма» («СОИС-ИФА»).
8. Состояние гуморального антиэндотоксинового иммунитета у больных инфарктом миокарда с сопутствующим сахарным диабетом / А.В. Ушаков, В.Ф. Кубышкин, А.И. Гордиенко [и др.] // Серце і судини. – 2006. – № 2. – С. 69-75.
9. Яковлев М.Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор пато-генеза заболеваний человека и животных / М. Ю. Яковлев // Успехи совр. биологии. – 2003, № 1. – С. 31-40.
10. Barclay G.R. Endotoxin-core antibodies: time for a reappraise? / G.R. Barclay // Intensive Care Med. – 1999. – № 5. – P. 427-429.
11. CD antigens antibodies // Information Based upon Leukocyte Typing – Garland Publishing RK 0147. – 1998. – 23 p.

Поступила в редакцию 10.04.13.

© В.А. Безрук, Л.Л. Воронцова, 2013

**ВПЛИВ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ  
ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ НА СТАН  
ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ  
У ХВОРИХ З ДОБРОЯКІСНИМИ  
ТА ЗЛОЯКІСНИМИ ПУХЛИНАМИ  
ГОРТАННОЇ ЧАСТИНИ ГЛОТКИ**

*Безрук В.А., Воронцова Л.Л. (Запоріжжя)*

*Резюме*

Надлишок ліпополісахариду в системному кровотоці при недостатності ендотоксин-зв'язуючих систем сприяють розвитку ендотоксичної агресії, яка супроводжує чисельні патологічні стани. Мета роботи: встановити вплив ендотоксину кишкової мікрофлори на стан клітинного імунітету у хворих з доброякісними та злоякісними пухлинами гортаноглотки. Було досліджено 20 донорів, 20 хворих з доброякісними пухлинами та 20 хворих зі злісними новоутвореннями гортаноглотки з гістологічно підтвердженим діагнозом – плоскоклітинна форма раку. В результаті дослідження було встановлено, що у онкохворих на тлі високих значень рівня ендотоксину і зниженні титру антитіл до ліпополісахариду, спостерігаються зміни з боку клітинної ланки імунної системи, що може бути розцінено як прояв вторинного імунодефіциту.

**Ключові слова:** новоутворення гортаноглотки, ендотоксин, антитіла до ліпополісахариду, імунна система.

**INFLUENCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE  
OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA  
ON A STATE OF IMMUNOLOGIC  
REACTIVITY AT PATIENTS WITH THE  
BENIGN AND MALIGNANT TUMORS  
OF LARYNGOPHARYNX**

*Bezruk V.A., Vorontsova L.L. (Zaporozhye)*

*Summary*

Excess of lipopolysaccharide in the systemic bloodstream and insufficiency of endotoxin-binding system causes development of endotoxin aggression being the factor of development of great number of pathological processes. The aim of research was revealing influence of endotoxin of gram-negative bacteria on immunologic reactivity of patients with the benign and malignant tumors of laryngopharynx. 20 donors, 20 patients with benign tumors and 20 patients with malignant neoplasms of laryngopharynx with the histological confirmed diagnosis like a planocellular cancer had been examined. It was determined, at oncopatients on a background of high values of endotoxin level and descent in a titer of antibodies to an lipopolysaccharide changes are observed on the part of a cellular link of immune system which can be estimated as a manifestation of secondary immunodeficiency.

**Key words:** neoplasms of laryngopharynx, endotoxin, antibodies to lipopolysaccharide, immune system.