



Х.Р. Халидова,
Г.А. Исмаилова, Ш.И. Ибрагимов
Республиканский специализированный
научно-практический медицинский центр
дерматологии и венерологии
МЗ Республики Узбекистан,
Ташкент

Клинико-иммунологические аспекты эпидемического типа саркомы Капоши

Ключевые слова

ВИЧ-инфекция, оппортунистические заболевания, эпидемический тип саркомы Капоши, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, цитокины.

Эпидемический тип саркомы Капоши (ЭСК), выделенный в начале 1980-х, является «оппортунистической» опухолью и считается «индикаторным» заболеванием при ВИЧ-инфекции [2, 3, 8].

Иммунологические сдвиги при ЭСК — типичные проявления вторичного иммунодефицита, характеризующегося устойчивым снижением количественных и функциональных показателей специфических и/или неспецифических факторов иммунорезистентности. Иммунодефицит при ЭСК проявляется двумя синдромами: инфекционным, обусловленным ВИЧ-инфекцией и герпесвирусом 8-го типа, и иммунопролиферативным, где субстратом опухолевого процесса является ткань, принимающая активное участие в реализации иммунного ответа. Рост опухоли сопровождается изменением активности функционального состояния иммунной системы и характеризуется трансформацией иммунного ответа, нарушениями в популяционном и субпопуляционном составе лимфоцитов, активной миграцией цитотоксических лимфоцитов в очаги поражения [1, 6, 7].

Предполагается, что опухоль за счет синтеза различных регуляторных веществ — цитокинов — индуцирует иммуносупрессию, что приводит к неэффективности противоопухолевого иммунитета. Поэтому одним из направлений исследования особенностей трансформации иммунного ответа у больных ЭСК является изучение роли цитокинов, обеспечивающих функцию межклеточных коопераций, позитивную и негативную иммунорегуляцию защитных функций организма. В литературе освещаются различные аспек-

ты изучения цитокинов при иммунодефицитных состояниях. Но, несмотря на многочисленные исследования, вопросы иммунопатогенеза ЭСК и комплексного анализа цитокинов остаются дискуссионными и требуют дальнейшего изучения [4, 5].

Актуальность проблемы обусловлена неполнотой знаний о характере взаимодействия инфекционного агента и макроорганизма, его влиянием на состояние противoinфекционной защиты и системы иммунитета в целом.

В связи с этим изучение клинико-иммунологических особенностей и определение патогенетической роли нарушений цитокинового профиля — ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИФН- γ — в патогенезе эпидемического типа саркомы Капоши представляет собой актуальную и значимую проблему современной медицины.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 44 пациента с ЭСК в возрасте ($37,7 \pm 2,3$) года. Группу контроля составили 45 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу.

Иммунологические исследования проводили в лаборатории иммуноцитоклинов Института иммунологии АН РУз в соответствии с методическими рекомендациями, разработанными в Институте иммунологии МЗ РФ и в Институте иммунологии АН РУз (1992, 2001). Фенотип иммунокомпетентных клеток определяли с помощью моноклональных антител производства ООО «Сорбент» Института иммунологии МЗ РФ методом непрямого розеткообразования с использованием стабилизированных эритроцитов.

Содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965) с помощью моноспецифических сывороток производства НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи АМН РФ согласно инструкции.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом селективного осаждения, основанном на осаждении ЦИК 3,75 % раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ) с последующим спектрофотометрическим измерением оптической плотности пробы (V. Haskova и соавт., 1978).

Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали путем инкубации смеси лейкоцитов и частичек латекса с использованием меламина-формальдегидного латекса (1,5 мк) производства НИИ биологического приборостроения.

Определение содержания интерлейкинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИФН- γ), основанное на твердофазном «сэндвич-варианте» иммуноферментного анализа, проводили с помощью тест-систем производства Вектор-Бест (Новосибирск, РФ).

Результаты исследования статистически обрабатывали путем вычисления средних арифметических и их стандартных ошибок. Существенность различий средних величин оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Среди 44 пациентов с ЭСК мужчин было 34 (77,3 %), женщин – 10 (22,7 %), городских жителей – 25 (56,8 %), сельских – 19 (43,2 %). Длительность ЭСК в среднем составила (3,3 \pm 1,5) года, давность заражения ВИЧ-инфекцией – (5,7 \pm 1,9) года. На момент обследования у больных ЭСК преобладали жалобы на сопутствующие заболевания мочеполовой системы – 15 (34,1 %). Параллельно у 28 (63,6 %) пациентов отмечались вирусные инфекции, характеризующиеся поражением кожи и слизистых оболочек. Грибковые инфекции кожи стоп и ногтей были обнаружены у 36 (81,8 %), другие поверхностные микозы, в том числе разноцветный лишай, у 25 (56,8 %), лямблии и другие кишечные инвазии – у 24 (54,5 %) пациентов. Причиной заражения ВИЧ-инфекцией у 72,7 % пациентов была беспорядочная половая связь, у 22,7 % – внутривенные инъекции лекарств и другие медицинские вмешательства, в том числе у 6,9 % – гемотрансфузии. Важной отличительной клинической особенностью ЭСК было первичное поражение кожи лица, слизистых оболочек и верхних конечностей. Излюбленная локализация – кончик носа и твердое небо. Кожно-патологический

процесс распространялся сверху вниз. В наших наблюдениях в 15 % случаев при ЭСК первично поражалась слизистая оболочка полости рта.

Результаты изучения состояния иммунной системы больных ЭСК (табл. 1) показали снижение экспрессии Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток; $p < 0,05$), которое сопровождалось снижением количества CD4⁺, что говорит об ингибировании Т-хелперов у ВИЧ-инфицированных больных ЭСК. Выявлено повышение относительного и абсолютного числа супрессорных цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов до 22,4 \pm 0,59 ($p < 0,05$) и 236 \pm 17 ($p \geq 0,05$) соответственно. За счет неравнозначного изменения количества CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов отмечалось достоверное снижение иммунорегуляторного индекса (ИРИ) до 0,9 \pm 0,07 ($p < 0,05$). Известно, что субпопуляция CD8⁺-лимфоцитов принимает участие в системе противоопухолевого ответа. Другой фракцией

Таблица 1. Иммунологические показатели больных ЭСК

| Показатель | Практически здоровые (n = 45) | Больные ЭСК (n = 44) |
|---|-------------------------------|----------------------|
| Лейкоциты, кл./мкл | 6236 \pm 272 | 6733 \pm 98 |
| Лимфоциты, % | 38,2 \pm 1,6 | 34,4 \pm 1,1* |
| кл./мкл | 2342 \pm 121 | 2028 \pm 45 |
| CD3 ⁺ , % | 62,7 \pm 1,7 | 44,3 \pm 0,7* |
| кл./мкл | 1437 \pm 85 | 987 \pm 85* |
| CD4 ⁺ , % | 26,4 \pm 0,7 | 20,5 \pm 0,9* |
| кл./мкл | 357 \pm 18 | 221 \pm 29* |
| CD8 ⁺ , % | 15,7 \pm 0,4 | 22,4 \pm 0,6* |
| кл./мкл | 212 \pm 14 | 236 \pm 17 |
| ИРИ (CD4 ⁺ /CD8 ⁺) | 1,7 \pm 0,1 | 0,9 \pm 0,1* |
| CD20 ⁺ , % | 11,7 \pm 1,3 | 27,8 \pm 0,4* |
| кл./мкл | 258 \pm 28 | 648 \pm 43* |
| CD 16 ⁺ , % | 18,8 \pm 1,6 | 23,4 \pm 2,4* |
| IgA, г/л | 2,2 \pm 0,1 | 3,0 \pm 0,1* |
| IgM, г/л | 1,1 \pm 0,1 | 1,4 \pm 0,1 |
| IgG, г/л | 14,7 \pm 0,9 | 17,6 \pm 0,8* |
| ЦИК, усл. ед. | 10,6 \pm 0,7 | 27,3 \pm 0,8* |
| Нейтрофилы, % | 53,3 \pm 1,7 | 52,2 \pm 1,8 |
| кл./мкл | 3321 \pm 88 | 3115 \pm 81 |
| ФИ, % | 59,5 \pm 1,6 | 41,0 \pm 0,9* |
| ФЧ | 4,4 \pm 0,1 | 3,1 \pm 0,1* |

Примечание. * Различия с практически здоровыми пациентами статистически значимы. Так же в табл. 2 и 3.

лимфоцитов, также играющей роль в противоопухолевом иммунитете, являются CD16⁺. Эта популяция лимфоцитов способна лизировать определенные опухолевые клетки-мишени без предварительного контакта и развития реакции типа иммунного ответа. Установлено, что у больных ЭСК в периферической крови повышается содержание CD16⁺-клеток до $23,4 \pm 2,4$ ($p < 0,05$). Можно предположить, что увеличение количества цитотоксических Т-лимфоцитов и CD16⁺-клеток является компенсаторной реакцией, направленной на стимуляцию противоопухолевой иммунореактивности.

Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов показало значительное снижение их активности в сравнении с контрольной группой. Отмечалось достоверное снижение числа как активных нейтрофилов, способных к фагоцитозу ($41,0 \pm 0,9$ по сравнению с $59,5 \pm 1,6$ в контроле; $p < 0,05$), так и захватываемых ими фагоцитарных частиц ($3,1 \pm 0,1$ по сравнению с $4,4 \pm 0,1$ в контроле; $p < 0,01$). Супрессия неспецифической защиты в свою очередь ведет к дефициту Т-клеточного звена иммунитета, снижению количества Т-хелперов (CD4⁺-клетки), тем самым формируя взаимозависимый эффект, еще в большей степени усугубляющий иммуносупрессию.

Определение количества В-лимфоцитов (CD20⁺) выявило достоверное их увеличение в сравнении с контролем ($p < 0,05$). В отношении концентрации иммуноглобулинов отмечен односторонний характер роста основных классов, что интерпретируется как следствие хронической антигенной стимуляции. Содержание IgA, IgG, IgM превышало данные контроля в 1,4; 1,2 и 1,3 раза соответственно. Повышение содержания ЦИК ($27,3 \pm 0,8$ при контроле $10,6 \pm 0,7$; $p < 0,05$) в сыворотке крови может быть связано с недостаточной реактивностью фагоцитирующих клеток. Известно, что нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками в утилизации иммунных комплексов из периферической крови.

При оценке системы клеток с маркерами апоптоза и пролиферации (табл. 2) CD95⁺, CD25⁺ отмечалось снижение CD25⁺-лимфоцитов, несущих рецепторы к ИЛ-2, и рост относительных значений экспрессии CD95⁺ ($34,3 \pm 1,8$ по сравнению с $21,3 \pm 0,4$ в контроле, $p < 0,01$). Повышенная экспрессия рецепторов CD95⁺ указывает на дисбаланс активационных сигналов, что ведет к развитию иммунного ответа по пути апоптоза, вызывает уменьшение интенсивности противовирусного иммунитета и способствует ускользанию вирусов ВИЧ-инфекции и HHV-8 от эффекторных механизмов иммунной системы.

Наблюдалось повышение количества лимфоцитов поздней активации с антигенами CDHLADr⁺, которые являются антигенами комплекса гистосовместимости класса HLA II и содержатся на зрелых активированных Т-лимфоцитах.

Цитокиновая сеть является важнейшим регуляторным механизмом межклеточных взаимодействий. Нормальная функция иммунной системы строится на балансе содержания иммунорегуляторных цитокинов, имеющих про- и противовоспалительные направления. Нарушение баланса продукции цитокинов имеет важное значение в иммунопатогенезе хронизации и прогрессировании заболевания. Сегодня известно, что многие цитокины (ИЛ-1α, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО-α, ИЛ-23, ИЛ-24) вырабатываются как лимфоцитами, так и опухолевыми клетками. Также известно, что ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1α способны продуцироваться опухолевыми клетками и проявляют себя как факторы усиления опухолевой прогрессии, активирующие ангиогенез и миграцию опухолевых клеток, а ФНО-α, являясь индуктором апоптоза и неангиогенеза, может вызывать усиление гибели лимфоцитов и распространение опухолевых клеток [1, 4].

Анализ провоспалительных цитокинов показал достоверное повышение ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-8 (табл. 3) в 8,2, в 2,4 и в 3,4 раза соответственно. ФНО-α, являясь индуктором апоптоза, оказывает прямое цитопатическое действие на инфицированные ВИЧ Т-хелперы, усиливая иммуносупрессию.

ИЛ-6 играет центральную роль в неспецифическом противовирусном иммунитете наряду с ФНО-α и является регулятором процессов созревания антителопродуцирующих клеток из В-лимфоцитов и самой продукции иммуноглобулинов. Высокие достоверные концентрации ИЛ-6 ($35,6 \pm 3,7$) пг/мл коррелируют с высоким содержанием В-лимфоцитов и концентрацией IgG.

ИЛ-6 и ФНО-α, которые являются, с одной стороны, ростовыми факторами, обеспечивающими пролиферацию и иммунорезистентность опухолевой ткани, стимулирующими ангиогенез, а с другой — ингибиторами Т-клеточного звена иммунитета и гамма-интерферона (ИФН-γ), ослабляют противовирусный иммунитет и усиливают онкорост. Очевидно, эти цитокины являются диагностическими критериями злокачественности процесса.

С гиперпродукцией ФНО-α и ИЛ-6 связывают развитие при ВИЧ-инфекции лихорадки, анемии, диареи, кахексии и патологических изменений на коже и слизистых оболочках при саркоме Капоши.

Результаты исследования уровня ИЛ-2 и ИФН- γ в сыворотке крови пациентов с ЭСК выявили достоверное снижение показателей: $(7,9 \pm 2,6)$ пг/мл и $(10,7 \pm 1,8)$ пг/мл соответственно. Низкое содержание ИЛ-2 в сыворотке крови больных ЭСК наблюдалось на фоне статистически достоверного снижения относительного количества CD3⁺, CD4⁺-лимфоцитов.

ИЛ-2 увеличивает продукцию эндогенных интерферонов, вызывающих прямой апоптоз опухолевых и зараженных вирусом клеток. ИЛ-2 в синергизме с ИФН- γ индуцируют антипролиферативный ответ, являясь противоопухолевыми цитокинами, активируют клональную пролиферацию Т-лимфоцитов, мобилизуют цитотоксические лимфоциты и натуральные киллеры на борьбу с опухолью. Снижение концентрации ИФН- γ и ИЛ-2 способствует снижению противоопухолевой, противовирусной и противомикробной защиты и, следовательно, развитию оппортунистических заболеваний.

ИЛ-4 является фактором дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, он активирует синтез иммуноглобулинов, стимулирует субпопуляцию CD8⁺-лимфоцитов, подавляет продукцию цитокинов ИЛ-2, ИФН- γ . Достоверных изменений уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-4 по сравнению с контрольной группой не наблюдали: $(6,8 \pm 3,1)$ и $(6,3 \pm 5,2)$ пг/мл соответственно.

Таким образом, при изучении иммунного статуса больных ЭСК выявлено снижение CD3⁺, CD4⁺-лимфоцитов на фоне роста количества CD8⁺-цитотоксических лимфоцитов, CD16⁺-естественных киллеров, гиперпродукции основных классов иммуноглобулинов, повышение экспрессии активационных маркеров CD95⁺, CDHLADr⁺ и угнетение CD25⁺. Выявлено снижение продукции цитокинов ИФН- γ , ИЛ-2 и гиперпродукцию ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8.

Выводы

На фоне уменьшения общего пула Т-лимфоцитов и Т-хелперов, дисбаланса основных субпопуляций (CD4⁺ и CD8⁺) наблюдается изменение эффективности межклеточных взаимодействий, проявляющееся нарушением баланса цитокинов, с преобладанием провоспалительных интерлейкинов. Дисбаланс в иммунорегуляторных клетках и цитоки-

Таблица 2. Маркеры ранней и поздней активации лимфоцитов у больных ЭСК

| Показатель | Практически здоровые (n = 45) | Больные ЭСК (n = 44) |
|-----------------------|-------------------------------|----------------------|
| CD25 ⁺ , % | 25,4 ± 1,09 | 21,8 ± 1,72 |
| CD95 ⁺ , % | 21,3 ± 0,42 | 34,3 ± 1,81* |
| CDHLADr ⁺ | 10,8 ± 1,2 | 15,2 ± 1,54* |

Таблица 3. Концентрация цитокинов в сыворотке крови больных ЭСК, пг/мл

| Показатель | Практически здоровые (n = 45) | Больные ЭСК (n = 44) |
|---------------|-------------------------------|----------------------|
| ФНО- α | 25,5 ± 2,2 | 210,6 ± 9,5* |
| ИЛ-6 | 14,8 ± 1,3 | 35,6 ± 3,7* |
| ИЛ-8 | 6,8 ± 1,6 | 23,4 ± 3,5* |
| ИЛ-2 | 10,3 ± 1,1 | 7,9 ± 2,6* |
| ИФН- γ | 25,7 ± 1,3 | 10,7 ± 1,8* |
| ИЛ-4 | 6,3 ± 5,2 | 6,8 ± 3,1 |

нах способствует развитию комбинированного индуцированного вторичного иммунодефицита.

При саркоматозном процессе, сопряженном с ВИЧ-инфекцией, происходит активизация гуморального иммунитета, повышение уровня сывороточных иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов. Наряду с дефицитом Т-клеточного звена иммунитета в динамике болезни отмечена функциональная недостаточность нейтрофилов.

Снижение количества CD4⁺, фагоцитарной активности нейтрофилов, концентрации ИЛ-2, ИФН- γ способствует подавлению противовирусного иммунитета и, как следствие, стимулированию репликации вирусов ВИЧ-инфекции и HHV-8, активизации другой вирусной, грибковой, паразитарной инфекции. Цитокины ИЛ-6 и ФНО- α , являясь одновременно ростовыми факторами, обеспечивающими пролиферацию опухолевой ткани и ангиогенез, и также ингибиторами клеточного звена иммунитета и γ -ИФН, ослабляют противовирусную и противоопухолевую защиту организма.

Список литературы

1. Барышников А.Ю. Взаимоотношения опухоли и иммунной системы организма // Практическая онкология.— 2003.— Т. 4, № 3.— С. 127—130.
2. Молочков А.В., Казанцева И.А., Гурцевич В.Э. Саркома Калоши.— М.: Бином, 2000.— 144 с.
3. Новикова Н.В., Чистякова И.А., Резайкина А.В. Саркома Капоши: современные данные о патогенезе, клинике и терапии // Вестн. дерматол. и венерол.— 2002.— № 3.— С. 44—46.
4. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление.— 2004.— Т. 3, № 2.— С. 16—22.
5. Babal P., Pec J. Kaposi's sarcoma — still an enigma // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.— 2003.— Vol. 17 (4)— P. 377—380.
6. Moore P.S., Chang Y. Detection of herpes-like DNA sequence in Kaposi's sarcoma patients with and without HIV infection // N. Eng. J. Med.— 2005.— Vol. 332.— P. 1181—1185.
7. Nishikawa H., Jager E., Ritter G. et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control the induction of antigen-specific CD4⁺ helper T cell responses in cancer patients // Blood.— 2005.— Vol. 106.— P. 1008—1011.
8. O'Connor P.G., Scadden D.T. AIDS Oncology // Inf. Dis.Clin. North. Am.— 2000.— Vol. 14, iss. 4.— P. 945—965.

Х.Р. Халідова, Г.А. Ісмаїлова, Ш.І. Ібрагімов

Клініко-імунологічні аспекти епідемічного типу саркоми Капоші

У сироватці крові 44 пацієнтів з епідемічним типом саркоми Капоші віком ($37,7 \pm 2,3$) року вивчали показники клітинної, гуморальної ланок імунітету, лімфоцитів з маркерами ранньої та пізньої активації, деяких прозапальних та протизапальних цитокинів. Встановлено, що на тлі зменшення загального пулу Т-лімфоцитів, Т-хелперів, дисбалансу основних субпопуляцій (CD4⁺ і CD8⁺), функціональної недостатності нейтрофілів, активізації гуморального імунітету, наростання рівня сироваткових імуноглобулінів, циркуляційних імунних комплексів спостерігається зміна ефективності міжклітинних взаємодій, що виявляється в порушенні балансу цитокинів з переважанням прозапальних інтерлейкінів. Дисбаланс у імунорегуляторних клітинах і цитокіну свідчить про порушення противірусного та протипухлинного імунітету.

Kh.R. Khalidova, H.A. Ismailova, Sh.I. Ibragimov

Clinical and immunological aspects of the epidemic type of Kaposi's sarcoma

Indicators of cellular, humoral components of immune system, lymphocytes with markers of early and late activation, certain pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines were studied in the serum of 44 patients with epidemic Kaposi's sarcoma type aged (37.7 ± 2.3) years. It was found that a change in the efficiency of intercellular interactions manifested by cytokine imbalance with a predominance of pro-inflammatory interleukins was observed despite the decrease in the total pool of T-lymphocytes, T-helper cells, imbalance of major subpopulations (CD4⁺ and CD8⁺), functional impairment of neutrophils, activation of humoral immunity, increased levels of serum immunoglobulins, circulating immune complexes. Imbalance in immunoregulatory cells and cytokine shows a violation of antiviral and antitumor immunity.