

A sejtes immunitás (NK-, K-sejtek) változása rosszindulatú petefészek-daganatos betegek műtéti kezelése során

Bánhidy Ferenc jr.,¹ Melczer Zsolt,¹ Lukácsi László,¹ Gimes Gábor,¹
Paulin Ferenc,¹ Siklós Pál²

¹Semmelweis Egyetem II. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikája,
²Szent István Kórház Nőgyógyászati Onkológiai Osztálya, Budapest

A vizsgálat célja: A szerzők tárgyalják a sejtes immunitásban résztvevő két sejtcsoport (Killer és Natural Killer) aktivitásának változását ovariumkarcinómás betegek műtéti kezelése kapcsán. *Vizsgálati módszerek:* Vizsgálják az operáció hatását 28 petefészekrákos beteg celluláris immurendszerére. A maximális K- és NK-sejt-aktivitás meghatározására a citotoxicitás enzimkinetikai modelljét alkalmazzák. *Eredmények:* Megállapítják, hogy a műtét nem befolyásolja a rosszindulatú petefészek-daganatos betegek K-, illetve NK-sejt-aktivitását. *Következtetések:* Eredményeik alapján arra következtetnek, hogy a műtétilag eltávolított rosszindulatú petefészekdaganat által okozott immunrendszeri aktivitásváltozás nem észlelhető az NK-, K-sejtek vonatkozásában, az általuk vizsgált időintervallumban, a jelen vizsgálati feltételek mellett. További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy pontosabb ismereteink legyenek a sejtes immunitás ezirányú változásaiban. *Magyar Onkológia* 44:149–152, 2000.

Objectives: The authors discuss upon the changes in the two cell types involved in cell mediated immunity (Killer and Natural Killer) as a result of operation in malignant ovarian tumor patients. *Methods:* They study the preoperative and postoperative cell mediated immunity of 28 malignant cystadenocarcinoma cases (FIGO stage I/a-III/c). To determine the maximum K and NK cell activity they used the kinetic model of cytotoxicity enzyme. *Results and conclusions:* They conclude that operation of malignant ovarian tumors had no significant influence on K and NK cell activity. They hypothesize that unchanged cell mediated immunity seems to be independent of malignant tumors, especially in these conditions. We need further information about this change of cell mediated immunity. *Bánhidy F, Melczer Zs, Lukácsi L, Gimes G, Paulin F, Siklós P. Changes of cell mediated immunity in malignant ovarian tumor patients after operation. Hungarian Oncology* 44:149–152, 2000.



A vizsgálat célja

A rosszindulatú petefészek-daganatok nem szerepelnek kiemelt helyen a nemzetközi rákhalálozási statisztikák nőkre vonatkozó vezető helyein. Ennek ellenére sajnos igen fontos területet töltnek be, tekintettel a petefészek-daganatok előfor-

dulási gyakoriságának, és ezen megbetegedések halálozási arányának szoros kapcsolatára.

A rosszindulatú daganatok kezelésénél általános szabálynak tekinthető a korai felismerés és a sikeres kezelés párhuzamba állítása. Kifejezetten igaz ez a petefészek rosszindulatú folyamataira is. A kismencedében csaknem rejtett módon elhelyezkedő páros szerv nem, vagy csak igen későn, a daganatprogresszió III. stádiumában ad tüneteket, jelezve a betegnek az orvoshoz fordulás kényszerét, illetve szükségességét. Ilyenkor a medicina vizsgálómódszerei könnyedén kimutatják az elváltozást, s megkezdődhet a konvencionális kezelés. A rosszindulatú petefészek-dagana-

Közlésre érkezett: 1999. június 22.
Elfogadva: 1999. szeptember 8.

Levelezési cím: Dr. Bánhidy Ferenc Jr.
Semmelweis Egyetem II.sz. Szülészeti és Nőgyógyászati
Klinika 1082. Budapest, Üllői út 78/a.

tok korai felismerése vagy véletlenül, vagy szűrővizsgálatok kapcsán történhet.

Az immunrendszer, mint azt számos szerző vizsgálta, különböző módon reagál a szervezetben létrejövő változásokra (3, 4, 9, 22, 24). Igaz ez egyebek között a rosszindulatú folyamatok által indukált aktivitásváltozásokra is (2, 5, 10). A sejt-immunrendszer, mint az 20 éve tudott, a daganat elleni védekezés alapjául szolgál. Ezen belül is kiemelkedően fontos szerepet töltenek be a K- és NK-sejtek (1, 2, 3, 7, 9, 10, 11, 15, 16, 23).

Jelen vizsgálataink azt a célt szolgálják, hogy értékeljük a K- és NK-sejt-aktivitás változásának alakulását, a műtéti terápia hatását rosszindulatú petefészek-daganatok kezelése kapcsán. Vizsgáljuk, hogy létrejön-e matematikailag értékelhető aktivitásbeli eltérés a daganat kiirtását követően az alapállapotnak tekintett rosszindulatú daganatos szervezetben.

Anya g és módszer

Vizsgálataink során a Szt. István Kórház Nőgyógyászati Onkológiai Osztályán kezelt petefészek-daganatos betegek véréből izolált mono-

nukleáris sejteket használtuk fel. A K- és NK-sejt-aktivitást a műtét előtt és után értékeltük önkontrollos módszerrel.

A vizsgált csoportba 28 rosszindulatú petefészek-daganatos beteg (átlagéletkor: 58, min-max: 40-79 év) tartozott. A malignus elváltozások közül a FIGO (Federation Internationale de Gynecologie et d' Obstetrique) stádiumbeosztás alapján az I/a-I/c stádiumba 12, II/b stádiumba 1, III/c stádiumba 15 beteg tartozott. Szövettanilag epiteliális rákot, mirigyrákot (cystadenocarcinoma) találtunk minden esetben. A vérvételek (4 ml vénás vér) a műtétet megelőző napon és a kezelést követő 7. napon történtek. A vérvételek során tájékoztattuk a betegeket a vérvételek okáról, és szóbeli beleegyezésüket kaptuk a beavatkozáshoz. Az antitestfüggő sejt (ADCC, Antibody-dependent cellular cytotoxicity) és a természetes (NCMC, Natural cell-mediated cytotoxicity) citotoxicitás meghatározás módszere:

1. Antitestfüggő sejt citotoxicitás (ADCC)

Targetsejtnek egy donortól származó 0,Rh+ (D) vörösvérsejteket (vvt) használtunk. A vvt- ket 3 órán át 37°C-on jelöltük 100-200 ml Cr⁵¹ (Amersham) izotóppal. Ez után elkészítettük a megfelelő koncentrációjú (2-12x10⁶/ml) oldatokat Bóyum módszert követve (6).

Effektorsejt: Mononukleáris sejteket Ficoll-Uromiro gradiensen szeparáltuk. Mosás után a non-adherens sejtek koncentrációját 2x10⁶/ml sejt-számra állítottuk be RPMI-1640 (GIBCO) médiával, amelyet 10%-os hővel inaktivált magzati borjúsavóval egészítettük ki (RPMI-FCS).

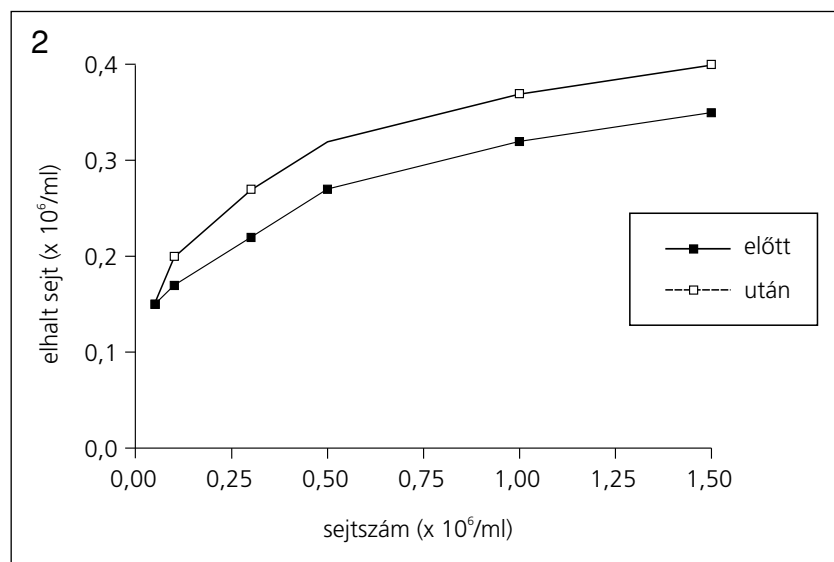
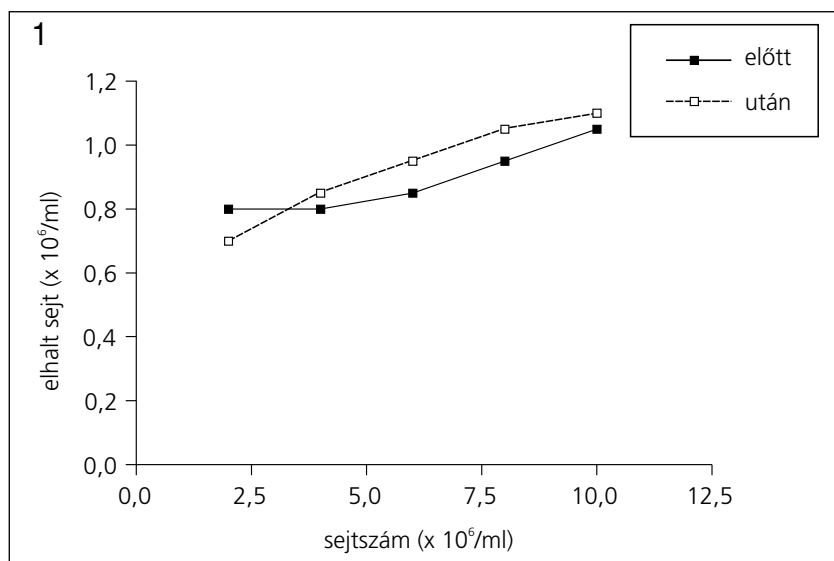
Antitest: Az OHVI által előállított, D+ antigén ellen immunizált egyénektől gyűjtött savóból szeparált IgG-frakcióját (250IU/mg IgG 1ml vízben, a WHO standardnak megfelelően) 1:1200 véghígításban használtuk.

2. Természetes citotoxicitás (NCMC)

Effektorsejt: A metodika e része megegyezik az (ADCC) vizsgálat során alkalmazott módszerrel. Targetsejtnek a K-562 myeloid leukémia sejtvoalat használtuk, 100-200 ml Cr⁵¹ izotóppal jelölve és hígításokat (0,125-2x10⁶/ml) készítettünk.

ADCC és NCMC mérés: Egy adott effektorsejt-populáció citotoxikus kapacitását csak célsejtfeleslegben lehet meghatározni. Ezért rendszerünkben az ún. enzimkinetikai citotoxicitás modellt alkalmaztuk. A konstans számú effektorsejt maximális aktivitását 2x és 12x 10⁶/ml sejt-szám között változó koncentrációjú célsejttel szemben vizsgáltuk. V alakú mikrotálca (Greiner Labor-technik) vájataiban 50-50 mikroliter célsejtet, effektorsejtet és ellenanyagot kevertünk össze. A végtérfigatot RPMI-FCS-sel 200 mikroliterre egészítettük ki. 37° C-on 5%-os CO₂ légtérű termosztátban (ASSAB) 16 órás inkubáció után 100 mikroliter felülúszó radioaktivitását határoztuk meg. A spontán izotópaktivitás, vagyis a célsejtekből az effektorsejtek jelenléte nélkül felszabaduló izotóp mennyisége 5% alatt volt. A maximális release-t desztillált vízben mértük, ez az összaktivitás 98-100%-ának bizonyult. A citoto-

1-2. ábra.
S.E.M.: standard error of median,
átlag: mért átlagos aktivitás,
maximum-minimum: mért legnagyobb és legkisebb aktivitás,
range: szórás



xicitást a milliliterenként elpusztult összes target K-562 sejt abszolút számával fejeztük ki.

A százalékos pusztulást a következő képlet szerint számoltuk:

$$\frac{\text{Cr}^{51}\text{release a teszben} - \text{sp Cr}^{51}\text{release}}{\text{maximális Cr}^{51}\text{release} - \text{sp Cr}^{51}\text{release}} \times 100$$

Az eredmények értékelését a BMDP programcsoomag alapján a Mann - Whitney és a Kruskal - Wallis nem paraméteres biológiai statisztikai analízisekkel végeztük (26).

Eredmények

Vizsgálataink kapcsán megállapítottuk, hogy a sejtes immunrendszer általunk vizsgált alkotói, az NK és K-sejtek, az ovariumkarcinómás betegek műtéti terápiaja esetében, az operáció előtti és utáni állapotban, aktivitásváltozást nem mutattak, szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk (K, n.s, NK, n.s.). (1. 2. ábra) (előtt: műtét előtti állapot, után: műtét utáni állapot.)

Az ábrák adatait K-sejt vonatkozásában $12 \times 10^6/\text{ml}$ vörösvérsejtszámnál NK-sejt vonatkozásában $2 \times 10^6/\text{ml}$ K-562 targetsejtszámnál határoztuk meg.

Megbeszélés

A petefészek-daganatos betegek kezelése ma is nehéz helyzet elé állítja a nőgyógyászt, illetve az onkológust. A probléma nehézsége sajnos gyakran párosul a kilátástalanság érzetével, tekintettel a későn felismert folyamat kezelésének sikertelenségére. A korai felismerés, mely a megbízható és olcsó szűrésen alapul, még csak elméletileg megoldott. Valódi nagy populációkon történő bevezetését még a nagyobb gazdasági háttérrel rendelkező országok sem tudják könnyen kivitelezni. A késői stádiumokban történt felismerés rontja a kezelés hatásosságát, ebből viszont szorosan következik, hogy a minimális gyógyulási esély mellett a túlélési mutatók is igen gyengék.

A modern platina, illetve taxán alapú kemoterápia, kiegészítve a sebészi beavatkozás szemléletváltozásából adódó újszerű technikákkal, némi reményt adhat mind a kezelést végző orvoscsoportnak, mind a petefészekrákban szenvedő betegeknek.

Fontos megjegyezni, hogy a fentiekből adódóan intenzív kutatások folynak több irányban. Ezek egyrészt a korai felismerés modern technikai eszközeivel történő segítségével (biofizikai, biokémiai módszerek), másrészt a kezelés hatásosságának, mint pl. a műtéti és a kemoterápiás kezelés radikalitásának kiterjesztésével, egyben a szupportív terápia alkalmazásával történnek (8, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 21, 25, 26). Az immunrendszer vizsgálatát azért tartjuk fontosnak, mert mind a diagnózis korai kialakításához, mind a kezelés segítéséhez számos helyen tud kapcsolódni. Vannak kutatók, akik úgy vélik, hogy fontos prognosztikai tényezők közé sorolhatók a sejtes immunrendszer alakjai közül a K-, NK-, LAK-, TIL-sejtek (20, 22). Ezen sejtek aktivitásváltozásai meghatározóak lehetnek a betegség progresszióját tekintve, mind a kezelés,

mind az utánkövetés (esetleges progresszió) időszakában is. Mások ennek a véleménynek a terápia továbblépéseként tekintenek az adoptív immunterápiára, mely a konvencionális onkoterápia részét képezné (5, 13).

Az általunk elvégzett vizsgálatok a K- és NK-sejtekre terjedtek ki. Saját eredményeink azt tükrözik, hogy a K- és NK-sejtek nem változtatják meg aktivitásukat a műtéti kezelés kapcsán. Eddig nem ismert annak az immunrendszerbeli változásnak, illetve változatlanságnak az oka, amely a számos szerző által ismertett eredmények eltérő voltára rávilágítana.

A továbbiakban fontosnak tartjuk, hogy jelen vizsgálataink kapcsán az esetszámot növeljük, illetve a kemoterápiás kezelés különböző sémáit is vizsgáljuk az NK-, K-sejtek aktivitásváltozásának tükrében.

Irodalom

1. Aoki T, Usuda Y, Myakosi H. Low natural killer syndrome: clinical and immunologic features. *Nat Immun Cell Growth Regul* 6:116-121, 1983
2. Bakács T, Czanik P, Kimber I, et al. Enhanced K-cell activity in the peripheral blood of patients with malignant disease. *Cancer Immunol Immunother* 6:170-176, 1984
3. Bakács T, Garam T, Ringwald G, et al. Comparison of the natural cell mediated and antibody dependent cell mediated cytotoxicity measured as a function of target cell number in patient with mammary tumors and healthy female blood donors. *Arch Geschwulstforsch* 1:121-124, 1981
4. Baker DA, Salvatore W, Milch PO. Effect of low-dose oral contraceptives on natural killer cell activity. *Contraception* 39:119-122, 1989
5. Bast R.C, Knapp R.C. Immunologic approaches to the management of ovarian carcinoma. *Semin Oncol* 1:264-268, 1984
6. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Lab Invest* 21:77-83, 1968
7. Burns GF, Glenn-Begley L, Mackay IR, et al. Supernatural killer cells. *Immunol Today* 6:370-373, 1985
8. Darai E, Tebouh J, Fouconnier A, et al. Management and outcome of borderline ovarian tumors incidentally discovered at or after laparoscopy. *Acta Obst Gynecol Scand* 77:451-455, 1998
9. Djeu JY. Natural killer cells. Role in resistance to cancer and infection. *J Fla Med Assoc* 78:763-766, 1991
10. Do Young NJ, Gill PG. Monocyte antibody-dependent cellular cytotoxicity in cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 18:54-58, 1984
11. Donnerstag B, Schroder W, Stegmuller M, et al. Functional analysis of tumor-associated lymphocytes from gynecological tumors. *Clin Exp Obstet Gynecol* 20:137-141, 1993
12. Garzetti GG, Cignitti M, Ciavattini A, et al. Natural killer cell activity and progression-free survival in ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest* 35:118-122, 1993
13. Garzetti GG, Possati L, Ciavattini A, et al. Immunobiologic integration for therapeutic approach in ovarian carcinoma. *Eur J Gynecol Oncol* 23:514-517, 1992
14. Guglielmine JN, Pennehouat G, Denol B, et al. Treatment of ovarian cysts by laparoscopy. *Contracept Fertil-Sex* 25:218-221, 1997
15. Herberman RB, Holden HT. Natural cell-mediated immunity. *Adv Cancer Res* 27:305-311, 1978
16. Herberman RB, Ortaldo JR. Natural killer cells: Their role in defense against disease. *Science* 214:24-32, 1981
17. Hirte HV, Clark DA. Factors determining the ability of cytokine-activated killer cells to lyse human ovarian carcinoma targets. *Cell Immunol* 136:122-126, 1991
18. Konno S, Nagase S, Sato S, et al. Indication for laparoscopic surgery of ovarian tumor. *Tokoku J Exp Med* 178:225-228, 1996

19. Koszkovszki PI, Hyc A, Malejck J. Natural killer cell activity in patients with ovarian tumors and uterine myomas. Eur J Gynecol Oncol (Suppl.):114-117, 1993
20. Lotzova E, Savary CA, Freedman RS, et al. Recombinant IL-2 activated NK cells mediate LAK activity against ovarian cancer. Int J Cancer 42:225-229, 1988
21. Malik E, Böhm W, Stoz, F, et al. Laparoscopic management of ovarian tumors. Surg Endosc 12:1326-1329, 1998
22. Perkonen F, Sieberg R, Makinen T, Miettinen, A. Immunological disturbance in patients with premature ovarian failure. Clin Endocrinol 25:1-5, 1986
23. Pross HF, Lotzova E. Role of natural killer cells in cancer. Nat Immun 12:279-282, 1993
24. Turi A, Di Prospero, F, Mazarini A, et al. Lymphocyte subsets in hyperandrogenic women with polycystic ovarian disease. Acta Eur Fertil 155:21-25, 1988
25. Whiteside TL, Herbermann RB. The biology of human natural killer cells. Ann Ist Super Sanita 335:26-31, 1990
26. Wirta V, Huang XH, Wirta O, Rantalaiko V. Mutation CG77T of methylenetetrahydro-folate reductase gene is not associated with coronary artery disease. Clin Chem Lab Med 36:625-629, 1998

MEGHÍVÓ

A Magyar Onkológusok Társasága tudományos konferenciát szervez, amelyre minden érdeklődőt meghívunk.

A konferencia ideje és helye:

2000. december 8-9.

Fejér Megyei Szent György Kórház, Székesfehérvár, Seregélyesi út 3.

A konferencia idején a Magyar Onkológusok Társasága közgyűlést rendez, amelyen a társaság szervezeti és működési szabályzatát érintő kérdések megtárgyalására kerül sor és lehetőség lesz a szükséges módosítások elfogadására.

Program:

1. Az onkológiai alapellátás időszerű kérdései.

Felkért előadó:
Dr. Szűcs Miklós

2. Az onkológus szakorvosok és háziorvosok feladatai a daganatok korai felismerésében. A hazai szűrőprogramot ismerteti

Dr. Dőbrössy Lajos

Mindkét témakörhöz várjuk az előadások bejelentését és hozzászólásokat.

3. Az idei Krompecher-díj átadása.

Előadó:
Dr. Ottó Szabolcs

A konferencia szervezéséről bővebb felvilágosítást nyújt Dr. Cseh József főorvos (8001. Székesfehérvár, Seregélyesi út 3. Telefon: 06-22-316-001).

Magyar Onkológusok Társasága
Elnöksége