

Monocyták és neutrophil granulocyták fagocitafunkciója ovariumcarcinomában

Kovács Anna Rebeka dr.¹ ■ Pál László dr.² ■ Szűcs Sándor dr.²
Lukács Luca oh.¹ ■ Póka Róbert dr.¹ ■ Lampé Rudolf dr.¹

Debreceni Egyetem, ¹Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet,
²Népegészségügyi Kar, Megelőző Orvostani Intézet, Debrecen

Bevezetés: A közelmúltban számos különböző daganatos megbetegedésben vizsgálták a tumorokat beszűrő immunsejtek funkcióit. A perifériás immunsejtek tumorpatogenezisben betöltött szerepének vizsgálatára azonban kevesebb kutatás irányult.

Célkitűzés: Célunk annak vizsgálata volt, hogy előrehaladott stádiumú ovariumcarcinomás betegek esetén a tumor jelenléte, illetve annak eltávolítása befolyásolja-e a perifériás monocyták és neutrophil granulocyták fagocitafunkcióját.

Módszer: Előrehaladott stádiumú serosus epithelialis ovariumcarcinomás betegek (n = 12) perifériás vérmintáit vizsgáltuk, amelyeket a tumorredukciós műtét előtt, valamint a 7. posztoperatív napon gyűjtöttük. A kontrollcsoportot 8 egészséges nő képezte. A monocyták és a neutrophil granulocyták vérmintákból való szeparálását követően a sejtekkel opsonizált, fluoreszcein–izotiocianáttal jelölt zimosan-A-partikulumokat fagocitáltattunk. A monocytákat indirekt immunfluoreszcenciás módszerrel azonosítottuk. A sejtek által bekebelezett részecskéket fluoreszcens mikroszkóp segítségével megszámloltuk, és kiszámítottuk a fagocitózisindexet. Statisztikai próbaként varianciaanalízist használtunk; a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények: A petefészekrákos betegek vérmintáiból izolált perifériás monocyták és granulocyták preoperatív fagocitózisindexei szignifikánsan alacsonyabbak voltak a kontrollcsoportból származó megfelelő sejtek értékeinél. A műtét utáni mintákból izolált monocyták és granulocyták fagocitafunkciója szignifikánsan emelkedett a preoperatív értékekhez képest, és mindkét sejttypusnál elérte az egészséges kontrolloktól származó sejtek fagocitózisindex-értékét.

Következtetés: Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy ovariumcarcinoma esetén a daganat és/vagy mikrokozonyozete olyan faktorokat termel, melyek a neutrophil granulocyták és monocyták fagocitafunkcióját deprimálják. A citoreduktív műtétet követő fagocitózisindex-növekedés alapján feltételezhető, hogy a tumor eltávolítását követően e faktorok termelése csökken vagy megszűnik.

Orv Hetil. 2018; 159(33): 1353–1359.

Kulcsszavak: petefészekrák, monocyta, neutrophil granulocyta, fagocitózis

Phagocytic function of monocytes and neutrophil granulocytes in ovarian cancer

Introduction: Recently, tumor-infiltrating immune cells have been studied in various cancers. However, fewer studies address the role of peripheral immune cells in the pathogenesis of cancer.

Aim: Our aim was to investigate whether the phagocytic activity of peripheral monocytes and neutrophil granulocytes is affected by the removal of tumor in advanced ovarian cancer.

Method: We investigated peripheral blood samples from 12 patients with advanced stage of serous epithelial ovarian cancer – which were collected before the optimal tumor reduction surgery and on the 7th postoperative day – and from 8 healthy women. After separation of monocytes and neutrophils, the cells were incubated with opsonized fluorescein isothiocyanate-labeled zymosan A particles as the target of phagocytosis. By using fluorescence microscope we counted the number of particles phagocytized by the cells and calculated the phagocytic index. Statistical analysis of the data was performed using analysis of variances method.

Results: Preoperative phagocytic indexes of monocytes and neutrophils from patients were significantly lower than phagocytic indexes of the corresponding cells from healthy women. The phagocytic function of monocytes and granulocytes isolated from postoperative samples of patients significantly increased compared to preoperative values and reached the phagocytic indexes of monocytes and neutrophils from healthy controls.

Conclusion: Based on our results we assume that the tumor and/or its microenvironment in ovarian cancer may produce factors that can depress the phagocytic function of monocytes and granulocytes. Since the phagocytic indexes

increased following the cytoreductive surgery, it can be assumed that after the removal of the tumor, the production of these factors is reduced or eliminated.

Keywords: ovarian cancer, monocyte, neutrophil granulocyte, phagocytosis

Kovács AR, Pál L, Szűcs S, Lukács L, Póka R, Lampé R. [Phagocytic function of monocytes and neutrophil granulocytes in ovarian cancer]. *Orv Hetil.* 2018; 159(33): 1353–1359.

(Beérkezett: 2018. március 28.; elfogadva: 2018. május 9.)

Rövidítések

CA = (cancer antigen) rákantigén; CRP = C-reaktív protein; DAPI = (4',6-diamidino-2-phenylindole) 4',6-diamino-2-fenilindol; EDTA = (ethylenediamine tetraacetic acid) etiléndiamin-tetraecetsav; FI = fagocitózisindex; FIGO = (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique) Nemzetközi Szülészeti és Nőgyógyászati Szövetség; FITC = fluoreszcein-izotiocianát; FITC-OZ = opsonizált, fluoreszcein-izotiocianáttal jelölt zimozán-A; Ig = immunglobulin; IL = interleukin; SD = (standard deviation) szórás; TGF- β = (transforming growth factor beta) transzformáló növekedési faktor-béta; TME = (tumor microenvironment) tumormikrokörnyezet

Az ovariumcarcinoma a petefészek rosszindulatú daganatos elváltozása. Alattomosan kialakuló, még ma is magas halálozással járó betegség, mely a rosszindulatú nőgyógyászati daganatok közül vezető haláloknak számít [1]. A nők körében bekövetkező, leggyakoribb daganatos megbetegedésekből származó halálokok sorrendjében az 5. helyen áll, és világszerte évi 140 ezer beteg haláláért felelős [2]. A megbetegedés az életkor előrehaladtával egyre gyakrabban fordul elő, a diagnózis idején a betegek életkora átlagosan 63 év. A magas halálozás oka részben abban keresendő, hogy a betegség korai stádiumban sokáig tünetmentes, csak előrehaladott stádiumban okoz tüneteket, és a leggyakrabban ekkor kerül felismerésre. A daganat kiterjedtsége alapján létrehozták a Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) szerinti stádiumbeosztást, melynek alapján a betegek I–IV. főtáriumba sorolhatók [3]. A petefészekrák elsődleges ellátását a citoreduktív műtét („debulking”) jelenti, mely beavatkozás után – amennyiben elvégezhető – <1 cm tumoros szövet marad vissza [4]. A műtéti ellátást követően a jelenlegi irányelvek szerint platinabázisú kemoterápia javasolt, taxánvegyületekkel kombinálva [5]. A petefészek hámeredetű daganatainak kóreredete az esetek többségében ismeretlen. A serosus epithelialis ovariumcarcinoma etiológiájának kérdésében számos elmélet született [6–8]. Az utóbbi években kimutatták, hogy az immunrendszer komoly befolyással bír a betegség klinikai lefolyására [6].

A monocyták és a neutrophil granulocyták a veleszületett immunrendszer fagocitózisra képes sejtjeiként egy-

aránt fontos szerepet játszanak a tumorosan transzformálódott sejtek eltakarításában, ezáltal a daganatok kialakulása elleni védelemben. A fagocitózis célja a bekebelezett mikrobák, apoptotikus vagy tumorossá vált sejtek elpusztítása, valamint az antigének bemutatása révén az adaptív immunitás sejtjeinek aktiválása [9, 10]. Habár a monocyták és a neutrophil granulocyták fagocitafunkciójának csökkenését számos állapotban/betegségben megfigyelték, daganatos megbetegedések esetén jelenleg kevés irodalmi adat áll rendelkezésre e sejtek fagocitafunkciójának változásáról. Kimutatták, hogy nagyobb valószínűséggel alakulhatnak ki egyes daganatok immunhiányos állapotokban [11], ami az immunrendszer fontos szerepére utal a daganatos betegségek patogenezisében. Immunológiai szempontból egy daganat makroszkópos megjelenése azt jelzi, hogy az azt kialakító sejteknek sikerült kijátszaniuk az immunrendszert („tumor escape”), mivel daganatos átalakulásuk ellenére nem pusztították el őket a citotoxikus sejtek, és felszaporodva létrehozták a daganatszövetet [1]. Számos daganattípus esetén megfigyelték, hogy az azokat beszűrő inflammatoricus sejtek száma korrelált a betegség kimenetelével [12].

Napjainkra számos kutatás ismeretes, melyek szerint az ovariumcarcinoma jelentős befolyással lehet a különböző immunsejtek működésére [13, 14]. Kutatások során kimutatták, hogy petefészekrákos betegek perifériás vérmintáiból izolált neutrophil granulocyták proinflammatoricus fenotípust mutatnak. E sejtekben növekedett a reaktívoxigén-gyökök termelése és az adhéziós molekulák expressziója az egészséges kontrollok vérmintáihoz képest [2]. Megfigyelték továbbá, hogy ovariumcarcinomás betegek esetén a terápia előtt vett perifériás vérmintában mért emelkedett neutrophil/lymphocytarány (mely korrelált a „cancer antigen” [CA]-125 emelkedésével) agresszívabb betegségfolyást jelzett [15] – csakúgy, mint számos más daganatos betegség esetén [16], míg az emelkedett perifériás lymphocytá/monocytarány a hosszabb túlélési idővel mutatott szoros összefüggést [17].

Az utóbbi években számos, a tumorokat infiltráló immunsejtek funkcióit vizsgáló kutatás született [18], azonban a keringésben lévő, perifériás immunsejteknek a különböző daganatok patogenezisében betöltött szere-

pét jóval kevesebb kutatás vizsgálta. Jelenleg nincs ismert irodalmi adatunk arra vonatkozóan, hogy az ovariumcarcinoma műtéti eltávolítása hogyan befolyásolja a neutrophil granulocyták és monocyták fagocitafunkcióját. Ezért célunk ezen immunsejtek fagocitafunkciójának vizsgálata volt előrehaladott stádiumú petefészekrákos betegek esetén a tumor eltávolítása előtt és 7 nappal azt követően gyűjtött, valamint egészséges (kontroll-) személyektől vett perifériás vérmintákból. Célunk mindezek által az ovariumcarcinoma patogenezisének és az immunrendszerrel való kapcsolatának jobb megismerése volt.

Módszer

Vizsgált személyek

A Debreceni Egyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága engedélyének birtokában, a vizsgált nők tájékozott beleegyezését követően, 10 ml perifériás vérmintát vettünk. A perifériás vérmintavételhez Vacutainer típusú EDTA-t tartalmazó (Becton Dickinson, Le Pont-de-Claix, France) zárt rendszerű vérvételi csöveket alkalmaztunk. Kutatásunk során 12 magas gradusú, serosus epithelialis ovariumcarcinomás beteg perifériás vérmintáit vizsgáltuk: a preoperatív vérmintavétel a tumorredukciós műtét reggelén, a posztoperatív mintavétel a műtétet követő 7. nap reggelén történt. A kontrollcsoportot 8 egészséges személy képezte, akik nem szenvedtek daganatos megbetegedésben. A vizsgálatban részt vevő személyek egyike sem szenvedett cukorbetegségben, immunszuppresszív betegségben, nem szedett gyógyszert, valamint nem volt súlyos belgyógyászati betegsége.

A monocyták és granulocyták szeparálása

A vizsgálatban részt vevő személyektől származó monocyták és granulocyták szeparálását a szakirodalomban korábban meghatározott módszer szerint végeztük [19]. Mind a preoperatív, mind a posztoperatív, valamint az egészséges személyektől származó vérmintákat azonos módon vizsgáltuk. A vérmintákat Hanks-oldattal (pH: 7,2–7,3) térfogatuk duplájára hígítottuk, majd ezt követően Ficoll-sűrűséggradiensre (1,077 g/cm³ és 1,119 g/cm³) rétegeztük. A rétegezést követően a minták centrifugálása következett: ezt 400 g-n, 24 °C-on, 30 percig végeztünk, melynek során az eltérő sűrűségű Ficoll-rétegek fázishatárára szeparálódtak a mononukleáris sejtek (monocyták és lymphocyták) és a polimorfonukleáris sejtek (granulocyták). A szeparálódott sejteket külön kémcsövekbe gyűjtöttük, majd kétszer mostuk Hanks-oldattal. Tripánkéfestéssel ellenőriztük a sejtek életképességét, mely minden esetben 96–98%-osnak adódott. A granulocyták aránya a sejtuszpenzióban 95–98%-osnak adódott morfológiai meghatározás alapján.

Zimozánrészecskék opszonizálása és fluoreszcens jelölése

A zimozánrészecskék opszonizálását és fluoreszcens jelzését a szakirodalomban korábban meghatározott módszer szerint végeztük [20]. A zimozán-A-partikulumokat (1 × 10⁸/ml) 60 percig 37 °C-on inkubáltuk karbonátpufferben (pH: 9,6), mely 0,01 mg/ml fluoreszcein-izotiocianátot (FITC) tartalmazott, majd a részecskéket háromszor mostuk Hanks-oldattal. A zimozánrészecskék opszonizálását 50% humán AB-szérumot tartalmazó Hanks-oldatban 30 percig, 37 °C-on végeztük, majd a fluoreszcensen jelölt és opszonizált zimozán-A (FITC-OZ)-partikulumokat háromszor mostuk Hanks-oldattal. Utána milliliterenként 3 × 10⁷ FITC-OZ-partikulumot tartalmazó Hanks-oldatban lefagyasztottuk, és felhasználásig –20 °C-on tároltuk.

Monocyták és neutrophil granulocyták fagocitafunkciójának meghatározása

A fagocitafunkció vizsgálatát a szakirodalomban korábban leírt módszerek szerint végeztük [21]. Szeparálást követően a monocyták és granulocyták sejtenyészto kamrára történő kitapasztása következett, amit 5%-os, hővel inaktivált humán AB-savót tartalmazó Hanks-oldat hozzáadásával végeztünk (30 perc, szobahőmérséklet). Minden kamrára 300 µl 10⁶ db sejtet tartalmazó szuszpenzió került. Végül Hanks-oldattal háromszor mostuk a kamrákat, hogy eltávolítsuk azokat a sejteket, amelyek nem tapadtak ki. A fagocitózis célpontjaként a sejtekhez opszonizált, fluoreszcein-izotiocianáttal jelölt zimozán-A (FITC-OZ)-partikulumokat adtunk. A felhasználásig lefagyasztva tárolt, FITC-OZ-t tartalmazó Hanks-oldatot, kiolvasztás után Hanks-oldattal tovább hígítottuk (1,5 : 1 – Hanks-oldat : FITC-OZ-t tartalmazó Hanks-oldat-arányban). Az oldatból minden kamrára 300 µl-t mértünk a kitapadt sejtekre, majd 37 °C-on, 5% CO₂-t tartalmazó, 100%-os páratartalmú levegőn 60 percig inkubáltuk. A nem fagocitált zimozánrészecskék fluoreszcenciáját tripánkéfestéssel oltottuk ki [22]. A kamrák leválasztása után a monocytákat és granulocytákat 30 percig, 4%-os paraformaldehid-oldattal fixáltuk a lemezekre. A monocyták azonosítására indirekt immunfluoreszcens jelölést használtunk. Első lépésként antihumán CD14+ antitesteket, majd fluoreszcensen jelölt (Dylight 594), IgG-ellenes másodlagos antitesteket adtunk a sejtekhez. Végül mind a monocyták, mind a granulocyták sejtmagjait 4',6-diamino-2-fenilindolt (DAPI) tartalmazó fedőmédiával festettük. A minták kiértékelését Axioplan fluoreszcens mikroszkóp (Zeiss, Oberkochen, Németország) segítségével végeztük. A kiértékelés során random módon kiválasztott látóterekben számoltuk a sejtek által fagocitált zimozánpartikulumok számát, majd fagocitózisindexet (FI) számoltunk: FI = 100 sejt által fagocitált részecskék száma/100.

Statisztikai analízis

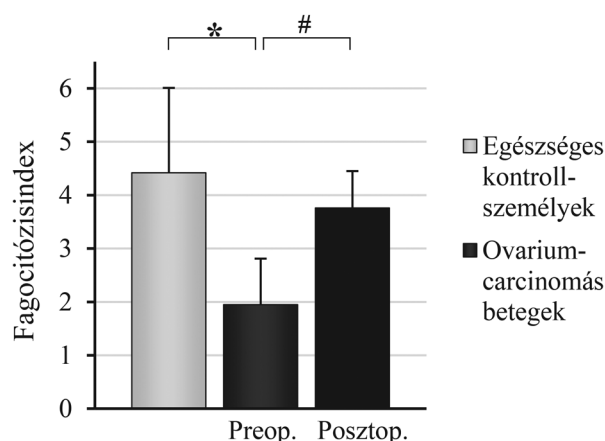
Az eredmények statisztikai értékelése során a preoperatív és posztoperatív FI-értékeket ismételt mérések varianciaanalízissel („repeated measures ANOVA”) hasonlítottuk össze. A különböző csoportok FI-értékeinek, valamint a kutatásban részt vevő személyek klinikai adatainak összehasonlításához egytényezős varianciaanalízist („one-way ANOVA”) használtunk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

A vizsgálatban részt vevő személyek klinikai adatait az 1. táblázat tartalmazza. Amint a táblázatban látható, az ovariumcarcinomás betegek és az egészséges személyek életkora ($p = 0,090$), graviditás- ($p = 0,682$), paritás- ($p = 0,481$) és testtömegindex-értékei ($p = 0,824$) között nem volt szignifikáns különbség. A vizsgálatunkban részt vevő minden beteg magas gradusú, serosus epithelialis ovariumcarcinómában szenvedett, és a FIGO-stádiumbeosztás alapján előrehaladott, III/C stádiumba volt sorolható. Minden beteg esetében optimális tumorredukciós műtét történt, a beavatkozás során < 1 cm tumoros szövet maradt vissza [4].

Monocyták fagocitafunkciója

Az 1. ábrán az ovariumcarcinomás betegektől műtét előtt ($n = 12$), a 7. posztoperatív napon gyűjtött ($n = 9$) és egészséges kontrollszemélyektől ($n = 8$) származó perifériás vérmintákból szeparált monocyták fagocitózisindex-értékeinek átlagait, valamint a szórásokat (\pm SD) tüntettük fel. Amint az 1. ábrán látható, a petefészekrákos betegektől műtét előtt gyűjtött perifériás vérmintákból származó monocyták FI-értéke ($FI = 1,95 \pm 0,69$) szignifikánsan ($p < 0,001$) alacsonyabb volt az egészséges



1. ábra

A vizsgálatban részt vevő ovariumcarcinomás betegektől műtét előtt (preoperatív [$n = 12$]) és 7 nappal műtét után (posztoperatív [$n = 9$]), valamint egészséges kontrollszemélyektől ($n = 8$) gyűjtött perifériás vérmintákból izolált monocyták fagocitózisindexe. Az ábrán fagocitózisindex-átlagértékek \pm szórások (SD) vannak feltüntetve

* $p < 0,001$ Ovariumcarcinomás betegek preoperatív monocytáinak és egészséges kontrollszemélyek monocytáinak FI-értékeit összehasonlítva

$p < 0,001$ Ovariumcarcinomás betegek pre- és posztoperatív izolált monocytáinak FI-értékeit összehasonlítva

kontrollszemélyek monocytáinak FI-értékéhez ($FI = 4,42 \pm 1,59$) képest. A petefészekrákos betegek posztoperatív ($FI = 3,76 \pm 0,70$) és preoperatív ($FI = 1,95 \pm 0,69$) vérmintáiból izolált monocyták fagocitafunkciójának összehasonlítása esetén a posztoperatív vérmintákból szeparált monocyták FI-értéke szignifikánsan ($p < 0,001$) emelkedett a preoperatív FI-értékhez viszonyítva. Az egészséges kontrollszemélyek ($FI = 4,42 \pm 1,59$) és a posztoperatív ($FI = 3,76 \pm 0,70$) státuszú betegekből izolált monocyták fagocitafunkciójának összehasonlítása esetén nem volt szignifikáns különbség ($p = 0,585$) a két csoport FI-értékei között.

1. táblázat | A vizsgálatban részt vevő ovariumcarcinomás betegek és egészséges kontrollszemélyek klinikai adatai

Klinikai adatok	Ovariumcarcinomás betegek ($n = 12$)	Egészséges kontrollszemélyek ($n = 8$)	p-érték
Kor [év]	65,25 \pm 11,64	53,88 \pm 11,57	NS
Graviditás ^a	2 \pm (0–5)	3 \pm (1–9)	NS
Paritás ^a	2 \pm (0–3)	2 \pm (1–3)	NS
Testtömegindex [kg/m ²]	26,52 \pm 4,12	27,65 \pm 3,62	NS
Differenciáltság	HG ^b	NA	NA
Tumorstádium (FIGO)	IIIC ^c	NA	NA
Optimális tumorredukció ^d	100%	NA	NA

Az értékek átlagot \pm szórást (SD) jelölnek. NA = nem értelmezhető; NS = nincs szignifikáns különbség.

^aAz értékek átlagot (szélsőértékeket) jelölnek.

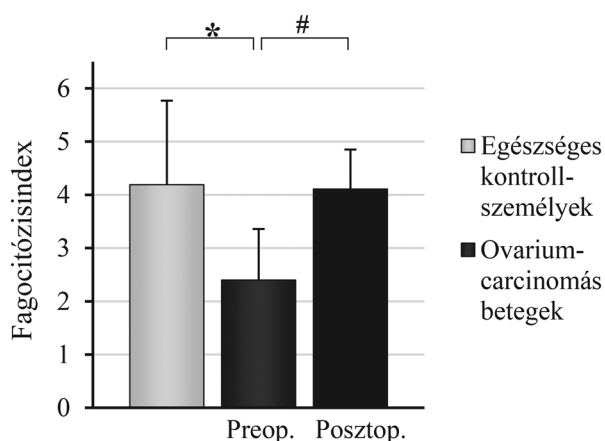
^bHG = magas gradus („high-grade”).

^cFIGO (Fédération Internationale de Gynécologie et d’Obstétrique) szerinti stádiumbeosztás a daganat kiterjedtsége alapján: III/C: A daganat egyik vagy mindkét petefészeket érinti, peritoneális áttétek vannak a kismedencén kívül (> 2 cm), és/vagy áttét mutatható ki a retroperitonealis vagy inguinális nyirokcsomókban.

^dOptimális tumorredukció: a daganat eltávolítását célzó műtét során < 1 cm tumoros szövet maradt vissza.

Neutrophil granulocyták fagocitafunkciója

A 2. ábrán az ovariumcarcinomás betegektől műtét előtt ($n = 11$), illetve a 7. posztoperatív napon gyűjtött ($n = 8$), valamint egészséges kontrollszemélyektől ($n = 5$) származó perifériás vérmintákból szeparált neutrophil granulocyták fagocitózisindex-értékeinek átlagait, valamint a szórásokat (\pm SD) tüntettük fel. Amint a 2. ábrán látható, a petefészekrákos betegektől műtét előtt gyűjtött perifériás vérmintákból származó neutrophil granulocyták FI-értéke ($FI = 2,40 \pm 0,96$) szignifikánsan ($p < 0,01$) alacsonyabb volt az egészséges kontrollszemélyek granulocytáinak FI-értékéhez ($FI = 4,19 \pm 1,58$) képest. A petefészekrákos betegek posztoperatív vérmintáiból izolált neutrophilek fagocitafunkciója ($FI = 4,11 \pm 0,74$) szignifikánsan ($p < 0,01$) emelkedett a preoperatív FI-értékekhez ($FI = 2,40 \pm 0,96$) viszonyítva. Az egészséges kontrollszemélyekből ($FI = 4,19 \pm 1,58$) és a posztoperatív ($FI = 4,11 \pm 0,74$) statusú betegekből izolált neutrophil granulocyták fagocitafunkciójának összehasonlítása esetén nem volt szignifikáns különbség ($p = 1,000$) a két csoport FI-értékei között.



2. ábra

A vizsgálatban részt vevő ovariumcarcinomás betegektől műtét előtt (preoperatív [$n = 11$]) és 7 nappal műtét után (posztoperatív [$n = 8$]), valamint egészséges kontrollszemélyektől ($n = 5$) gyűjtött perifériás vérmintákból izolált neutrophil granulocyták fagocitózisindexe. Az ábrán fagocitózisindex-átlagértékek \pm szórások (SD) vannak feltüntetve

* $p < 0,01$ Ovariumcarcinomás betegek preoperatív granulocytáinak és egészséges kontrollszemélyek granulocytáinak FI-értékeit összehasonlítva

$p < 0,01$ Ovariumcarcinomás betegek pre- és posztoperatív izolált granulocytáinak FI-értékeit összehasonlítva

Megbeszélés

Az ovariumcarcinoma a második leggyakoribb nőgyógyászati daganatos megbetegedés, melyből világszerte 225 500 új esetet diagnosztizálnak évente. Általában előrehaladott (FIGO III–IV.) stádiumban kerül felfedezésre, amikor az 5 éves túlélés esélye már csak 25%-ra tehető [3]. Habár a petefészekrák rengeteg nőt érint, etiológiája még ma sem teljesen tisztázott; patogenezis-

sében az immunrendszer szerepét is feltételezik [6–8]. Kutatásunk során célunk az ovariumcarcinoma patogenezisének és az immunrendszerrel való kapcsolatának jobb megismerése volt.

Eredményeink szerint a petefészekrákos betegek preoperatív vérmintáiból izolált perifériás monocyták és granulocyták fagocitafunkciója szignifikánsan csökkent az egészséges kontrollszemélyek sejteinek fagocitafunkciójához képest. Eredményünk egybevág a szakirodalomban található, emlőrákos betegek perifériás vérmintáiból izolált monocyták fagocitafunkcióját vizsgáló kutatással, melynek során a betegség súlyosságával összefüggően szignifikánsan csökkent funkciót tapasztaltak egészséges kontrollszemélyek monocytáinak fagocitózisaktivitásához képest [23]. Az előbbi adatok alapján elképzelhető, hogy ovariumcarcinoma esetében is összefüggés lehet a monocyták és/vagy a neutrophil granulocyták fagocitafunkciójának csökkenése és a betegség súlyossága között, azonban kutatásunk nem tette lehetővé a petefészekrák fagocitózisra gyakorolt hatásának stádium, differenciáltsági fok, illetve szövettani csoportok szerinti összehasonlítását, ezért ennek megállapítása további vizsgálatokat igényel.

Kutatásunk során a műtét utáni mintákból izolált monocyták és granulocyták fagocitózisindexe szignifikánsan emelkedett a preoperatív értékekhez képest, ami ellenében áll a szakirodalomban fellelhető, emlőrákos betegek perifériás monocytáinak fagocitafunkcióját vizsgáló kutatás eredményeivel: e szerint a monocyták fagocitafunkciója a műtéti terápiát követően tovább csökkent a diagnózis idején mért értékekhez képest [23]. A szakirodalomban számos, a különböző műtéti beavatkozásoknak az immunsejtek funkciójára gyakorolt hatását vizsgáló kutatás érhető el, melyek közül néhány a neutrophil granulocyták és/vagy monocyták fagocitafunkciójának vizsgálatára irányult. E kutatások legtöbbször szerint a sejtek fagocitafunkciója csökkent vagy nem változott a műtét alatt, illetve az azt követő napokban vett vérmintákból izolált sejtek esetén a műtétet megelőző időszakhoz képest [23–26]. Abdominalis hysterectomián [27], illetve egyéb nőgyógyászati műtéten átesett betegek perifériás neutrophil granulocytáinak fagocitafunkciója nem változott a műtétet követő 24 órában a műtétet megelőzően mért adatokhoz képest [28]. Annak pontos megállapítása, hogy maga a műtéti beavatkozás hatással van-e a sejtek fagocitózisára, bár a szakirodalmi adatok alapján nem valószínű, további vizsgálatokat igényel jóindulatú nőgyógyászati daganatos betegség miatti hasi műtéten átesett betegek pre- és posztoperatív mintáiból történő fagocitafunkció-meghatározással. Az előbbi adatok alapján feltételezhető, hogy serosus epithelialis petefészekrákos betegek perifériás monocytáinak és neutrophil granulocytáinak fagocitafunkciójának a posztoperatív időszakra történő szignifikáns növekedése az ovariumcarcinoma sajátossága lehet, mely a daganat immunrendszert befolyásoló képességére utalhat.

Mára már világhosszra vált, hogy a daganatokat mint szervhez hasonló struktúrákat kell értelmezni, melyekben tumorosan átalakult és a sztrómát alkotó, nem transzformálódott, tumorasszociált sejteknek a komplex kétirányú interakciói zajlanak [29]. A neoplasztikus sejtek számos változást képesek indukálni a tumorstromában, ezáltal azt patológiás entitássá, „tumormikroenvironmentt” (tumor microenvironment – TME) konvertálják. A TME a tumorsejtek és a normális sejtek közötti interakciók hatására alakul ki, feladata pedig a tumor növekedésének és progressziójának segítése [30]. Egyéb daganatokhoz hasonlóan ovariumcarcinoma esetén is megfigyelték, hogy a TME a benne megjelenő immunosuppresszív sejtek citokin- és kemokintermelése révén direkt elősegíti a tumorpatogenezist, és elnyomja a tumor ellen irányuló immunválaszt. A termelt faktorok (interleukin [IL]-4, IL-10, IL-13, vascularis endothelialis növekedési faktor, transzformáló növekedési faktor [TGF]- β , prosztaglandin E-2, metalloproteáz enzimek) által optimális környezetet teremt a tumor számára, ezáltal a tumorsejtek az immunrendszert kikerülve proliferálhatnak, és a daganat idővel klinikailag is megjelenhet [1, 31]. A fentiek ismerete, valamint az ovariumcarcinomás betegek esetén a tumor eltávolítását követően mért fagocitózisindex-növekedés alapján feltételezhető, hogy a tumor vagy a TME olyan faktorokat termel, melyek a neutrophil granulocyták és monocyták fagocitafunkcióját deprimálják, és a tumor eltávolítását követően e faktorok termelése csökken vagy megszűnik. A fagocitafunkciót csökkentő faktorok pontos azonosítása további kutatások célja lehet.

Petefészek-daganatos betegektől vett vérmintákból különböző citokineket vizsgálva megállapították, hogy epithelialis ovariumcarcinomás betegek CA-125-, IL-6-, IL-7-, IL-8-, IL-10- és TGF- β -szérumszintjei szignifikánsan magasabbak, mint az egészségesek, illetve a jóindulatú petefészek-daganatos betegek szérumban mért értékek [1, 32]. Kimutatták, hogy a szérumban mért emelkedett IL-6-, IL-8- és C-reaktívprotein (CRP)-szint epithelialis petefészekrák esetén rosszabb prognózissal korrelál [33]. Az előbbi adatok alapján feltételezhető, hogy ovariumcarcinoma esetén a betegek szérumban emelkedett szintű faktorok – köztük az IL-10, melynek szérumszintje petefészekrákos betegek debulking műtétét követően szignifikánsan csökkent [1] – befolyásolhatják a monocyták, illetve a neutrophil granulocyták fagocitafunkcióját, ami magyarázhatja az általunk mért preoperatív csökkent fagocitózisindexeket, valamint azok szignifikáns növekedését a műtét utáni 7. napra.

Az ovariumcarcinoma konvencionális terápiájának kiegészítéseként, a fentiek alapján számos lehetőség elképzelhető az immunrendszer befolyásolása által, mely történhet az 'immunosurveillance' mechanizmus erősítésével, illetve a protumorhatások antagonizálásával. A TME-ben lévő immunosuppresszív sejtek „átprogramozása” tumorelles hatását, segítheti a tumoros sejtek elpusztítását [31]. Napjainkban számos kutatás foglalko-

zik különböző célzott terápiás lehetőségek kidolgozásával [34]. Ennek kivitelezésére a jövőben optimális megoldásnak tűnik antitestek alkalmazása, melyek hathatnak közvetlenül a tumorsejteken, a tumor mikroenvironmentben vagy az immunválasz módosításán [35] – akár a monocyták és neutrophil granulocyták fagocitózisaktivitásának növelésén – keresztül. A petefészekrákos betegek szérumban emelkedett mért citokinek (CA125, IL-6, IL-7, IL-8, és IL-10 és TGF- β) antitestterápia célpontjai lehetnek.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása, illetve a kapcsolódó kutatómunka során a szerzők anyagi támogatásban nem részesültek.

Szerzői munkamegosztás: K. A. R.: A kísérletek tervezése, kivitelezése, a közlemény megírása, statisztikai számítások. P. L., L. L.: A kísérletek elvégzése. Sz. S.: A kísérletek felügyelete, a kísérletek technikai kivitelezésének kidolgozása. P. R.: A vizsgálat felügyelete, a betegbevitel felügyelete. L. R.: A vizsgálat és a kísérletek felügyelete, a közlemény megírása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők hálásan köszönik Kovács Mariann asszisztensnőnek a technikai segítséget.

Irodalom

- [1] Coosemans A, Decoene J, Baert T, et al. Immunosuppressive parameters in serum of ovarian cancer patients change during the disease course. *Oncoimmunology* 2016; 5: e1111505.
- [2] Mayer C, Darb-Esfahani S, Meyer AS, et al. Neutrophil granulocytes in ovarian cancer – induction of epithelial-to-mesenchymal transition and tumor cell migration. *J Cancer* 2016; 7: 546–554.
- [3] Matulonis UA, Sood AK, Fallowfield L, et al. Ovarian cancer. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 16061.
- [4] Schorge JO, McCann C, Del Carmen MG. Surgical debulking of ovarian cancer: what difference does it make? *Rev Obstet Gynecol.* 2010; 3: 111–117.
- [5] Webber K, Friedlander M. Chemotherapy for epithelial ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017; 41: 126–138.
- [6] Charbonneau B, Goode EL, Kalli KR, et al. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Crit Rev Immunol.* 2013; 33: 137–164.
- [7] Long Roche KC, Abu-Rustum NR, Nourmoussavi M, et al. Risk-reducing salpingectomy: let us be opportunistic. *Cancer* 2017; 123: 1714–1720.
- [8] Macciò A, Madeddu C. Inflammation and ovarian cancer. *Cytokine* 2012; 58: 133–147.
- [9] Lim JJ, Grinstein S, Roth Z. Diversity and versatility of phagocytosis: roles in innate immunity, tissue remodeling, and homeostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7: 191.
- [10] Nicolás-Ávila JA, Adrover JM, Hidalgo A. Neutrophils in homeostasis, immunity, and cancer. *Immunity* 2017; 46: 15–28.

- [11] Salavoura K, Kolialexi A, Tsangaris G, et al. Development of cancer in patients with primary immunodeficiencies. *Anticancer Res.* 2008; 28: 1263–1269.
- [12] Lança T, Silva-Santos B. The split nature of tumor-infiltrating leukocytes. Implications for cancer surveillance and immunotherapy. *Oncoimmunology* 2012; 1: 717–725.
- [13] Chen F, Hou M, Ye F, et al. Ovarian cancer cells induce peripheral mature dendritic cells to differentiate into macrophagelike cells in vitro. *Int J Gynecol Cancer* 2009; 19: 1487–1493.
- [14] Orfanelli T, Doulaveris G, Holcomb K, et al. Inhibition of autophagy in peripheral blood mononuclear cells by vaginal fluid from women with a malignant adnexal mass. *Int J Cancer* 2015; 137: 2879–2884.
- [15] Ethier JL, Desautels DN, Templeton AJ, et al. Is the neutrophil-to-lymphocyte ratio prognostic of survival outcomes in gynecologic cancers? A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2017; 145: 584–594.
- [16] Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2014; 106: dju124.
- [17] Zhu JY, Liu CC, Wang L, et al. Peripheral blood lymphocyte-to-monocyte ratio as a prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a multicenter retrospective study. *J Cancer* 2017; 8: 737–743.
- [18] Uribe-Querol E, Rosales C. Neutrophils in cancer: two sides of the same coin. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 983698.
- [19] Bøyum A. Isolation of lymphocytes, granulocytes and macrophages. *Scand J Immunol.* 1976; 5(Suppl 5): 9–15.
- [20] Hed J, Hallden G, Johansson SG, et al. The use of fluorescence quenching in flow cytometry to measure the attachment and ingestion phases in phagocytosis in peripheral blood without prior cell separation. *J Immunol Methods* 1987; 101: 119–125.
- [21] Vrsalovic M, Vrsalovic MM, Presecki AV, et al. Modulating role of alcohol and acetaldehyde on neutrophil and monocyte functions in vitro. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 462–465.
- [22] Busetto S, Trevisan E, Patriarca P, et al. A single-step, sensitive flow cytometric assay for the simultaneous assessment of membrane-bound and ingested *Candida albicans* in phagocytosing neutrophils. *Cytometry A* 2004; 58: 201–206.
- [23] Arsenijević N, Baskić D, Popović S, et al. Preliminary study of mononuclear phagocytosis during breast cancer therapy. *J BUON* 2005; 10: 105–109.
- [24] Bowers TK, O'Flaherty J, Simmons RL, et al. Postsurgical granulocyte dysfunction: studies in healthy kidney donors. *J Lab Clin Med.* 1977; 90: 720–727.
- [25] Cullen BF, Hume RB, Chretien PB. Phagocytosis during general anesthesia in man. *Anesth Analg.* 1975; 54: 501–504.
- [26] van Dijk WC, Verbrugh HA, van Rijswijk RE, et al. Neutrophil function, serum opsonic activity, and delayed hypersensitivity in surgical patients. *Surgery* 1982; 92: 21–29.
- [27] El-Maalllem H, Fletcher J. Effects of surgery on neutrophil granulocyte function. *Infect Immun.* 1981; 32: 38–41.
- [28] Khan FA, Kamal RS, Mithani CH, et al. Effect of general anaesthesia and surgery on neutrophil function. *Anaesthesia* 1995; 50: 769–775.
- [29] Laoui D, Van Overmeire E, Movahedi K, et al. Mononuclear phagocyte heterogeneity in cancer: different subsets and activation states reaching out at the tumor site. *Immunobiology* 2011; 216: 1192–1202.
- [30] Chen F, Zhuang X, Lin L, et al. New horizons in tumor micro-environment biology: challenges and opportunities. *BMC Med.* 2015; 13: 45.
- [31] Chimal-Ramírez GK, Espinoza-Sánchez NA, Fuentes-Panana EM. Protumor activities of the immune response: insights in the mechanisms of immunological shift, oncotraining, and oncopromotion. *J Oncol.* 2013; 2013: 835956.
- [32] Lambeck AJ, Crijns AP, Leffers N, et al. Serum cytokine profiling as a diagnostic and prognostic tool in ovarian cancer: a potential role for interleukin 7. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 2385–2391.
- [33] Deme D, Telekes A. Prognostic importance of plasma C-reactive protein (CRP) in oncology. [A C-reaktív protein (CRP) plazmaszintjének prognosztikai jelentősége az onkológiában.] *Orv Hetil.* 2017; 158: 243–256. [Hungarian]
- [34] Grunewald T, Ledermann JA. Targeted therapies for ovarian cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017; 41: 139–152.
- [35] Sütő G. The role of immune system in the control of cancer development and growth. [Hogyan ellenőrzi az immunrendszer a daganatok kialakulásának és növekedésének folyamatát?] *Orv Hetil.* 2016; 157(Suppl 2): 3–8. [Hungarian]

(Kovács Anna Rebeka dr.,
 Debrecen, Nagyerdei krt. 98., 4032
 e-mail: kovacsanna931@gmail.com)

Otthonról végezhető munka nyugdíjas háziorvosok részére!

Otthonról végezhető – kizárólag telefonhívást fogadó – ügyeleti munkára keresünk nyugdíjas háziorvost, őstől.

Hosszútávú együttműködés, tisztességes mellékjövedelem.

Ha ismer valakit, akit érdekelhet, kérjük jelezze számára a lehetőséget!

Érdeklődés telefonon a +36 30 240 2424-es számon
 vagy írásban a rolltimeinventltd@gmail.com e-mail címen.