

### Клинико-иммунологический анализ специфической и сочетанной иммунотерапии больных раком шейки матки

Д.К. Кенбаева<sup>1</sup>, А.Ф. Лазарев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Городской онкологической диспансер г. Астана, Республика Казахстан;

<sup>2</sup>Алтайский филиал ФБГУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Барнаул

Контакты: Динара Кумаровна Кенбаева dikenb@mail.ru

Целью исследования является сравнительная оценка эффективности 2 различных способов иммунотерапии больных раком шейки матки (РШМ). Обследованы 57 пациенток с РШМ III стадии, распределенные на 3 группы – сочетанной лучевой терапии, комбинации лучевой и специфической иммунотерапии, а также лучевой, специфической и адаптивной иммунотерапии. Клиническую эффективность лечения оценивали по показателям регрессии первичной опухоли и 3-летней выживаемости. Показано, что наибольшей клинической эффективностью обладает схема сочетанной иммунотерапии. Клинической эффективности лечения сопутствовала положительная динамика показателей клеточного звена иммунитета.

**Ключевые слова:** рак шейки матки, иммунотерапия, Ронколейкин

#### The clinical-immunological analysis of a specific and combined immunotherapy of patients with cervical cancer

D.K. Kenbayeva<sup>1</sup>, A.F. Lazarev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>City Oncology Dispensary, Astana, Republic of Kazakhstan;

<sup>2</sup>Altai Branch, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Barnaul

Research objective is the comparative assessment of efficiency of two various ways of an immunotherapy of patients with cervical cancer. 57 patients with cervical cancer, the III stages, distributed on 3 groups – combined radiotherapy, a combination of a radiotherapy and specific immunotherapy, and also a radiotherapy, specific and adaptive immunotherapy are surveyed. Clinical efficiency of treatment was estimated by means of primary tumor regression and 3-year survival rate. The scheme of combined immunotherapy was shown to possess the most clinical efficiency. Positive dynamics of cell immunity indicators was accompanied to clinical efficiency of treatment.

**Key words:** cervical cancer, immunotherapy, Roncoleukin.

Иммунотерапия больных раком шейки матки (РШМ) является редкой в клинической практике и обычно заключается в применении средств, оказывающих неспецифическое стимулирующее воздействие на различные иммунные механизмы [1, 2]. Разработки специфической иммунотерапии данной онкологической патологии до настоящего времени практически не осуществлялись, хотя РШМ не считается иммунорезистентной опухолью [3, 4].

В то же время, иммунотерапевтические методы при соматических опухолях давно доказали свою состоятельность, притом не только клиническую, но и экономическую [5]. Существуют 2 основных подхода к иммунотерапии: специфическая и адаптивная. Согласно имеющимся классификациям, к специфической относят применение противораковых сывороток, т. е. комплекса специально полученных антител к антигенным детерминантам злокачественного новообразования. Хотя такой метод считается наиболее эффективным, использование его возможно далеко не всегда ввиду малой специфичности этих детерминант у множества новообразований. «Классической» адаптивной терапией считается применение способов активации клеточного иммунитета. Кроме того, су-

ществуют подходы, способствующие целенаправленной активации иммунокомпетентных клеток в отношении тканей новообразований, которые мы, как некоторые другие авторы, склонны относить скорее к специфическим, нежели адаптивным способам. Один из них использован в настоящем исследовании, целью которого является сравнительная оценка эффективности 2 различных способов иммунотерапии больных РШМ.

#### Материалы и методы

В исследование включены больные РШМ с III клинической стадией ( $n = 57$ ), в возрасте от 40 до 65 лет, средний возраст пациенток:  $50,9 \pm 1,5$  года.

Критерии включения больных в исследование предусматривали наличие клинико-морфологически верифицированного диагноза, информированного согласия на проведение лечения, включающего сочетанную лучевую и иммунотерапию, анонимное использование полученных данных для научного анализа и для опубликования.

Во всех группах проводилась сочетанная лучевая терапия (СЛТ), включающая дистанционную  $\gamma$ -терапию в статическом или подвижном режиме на область

первичной опухоли и зоны возможного параметрального и лимфогенного распространения. Суммарная очаговая доза в точке В от дистанционного облучения – 38–40 Гр. Второй компонент СЛТ (внутриполостное облучение) осуществлялось методом введения метркольпостатов и радиоактивных источников низкой активности до суммарной очаговой дозы 50–60 Гр в точке А или источников высокой активности (последовательное автоматизированное введение на аппарате «Агат-В» с фракционированием по 5 Гр, 10 сеансов).

В обеих группах иммунотерапии применена методика специфической иммунотерапии (СИТ), заключающейся в активации иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов) и их стимуляцию опухолевым антигеном *in vitro* с последующей реинфузией в системный кровоток ( $n = 37$ ), в том числе основная группа № 2 ( $n = 17$ ) и без адаптивной иммунотерапии (АИТ) ( $n = 20$ ). Комбинированная иммунотерапия (основная группа: № 2 – 17 больных) также предусматривала одновременное применение АИТ в виде препарата системной энзимотерапии флогэнзим *per os* («Mugos Pharm», Германия) и препарата рекомбинантного интерлейкина-2 Ронколейкин («Биотех», Россия). В контрольную группу были включены 45 практически здоровых женщин в возрасте от 30 до 62 лет, добровольцев, предварительно обследованных с использованием комплекса физикальных, инструментальных методов и прошедших полное иммунологическое обследование, не имевших согласно полученным данным, никаких симптомов злокачественных новообразований, тяжелых соматических и острых заболеваний.

В начале исследования и на этапе завершения СЛТ было проведено определение объема опухоли по данным рентгеновской компьютерной томографии (Somatom 40, Siemens) или ультразвукового исследования (УЗИ), в качестве критерия оценки эффективности лечения использована динамика объема опухоли.

Критерии иммунологического обследования, учитывая современные сведения по противоопухолевой

иммунной защите, включали определение на проточном цитометре некоторых показателей клеточного звена. В частности, проанализировано содержание в крови больных лимфоцитов следующих кластеров дифференцировки: зрелые Т-лимфоциты – CD3+ (диагностикум – Beckman Coulter, № А07746); Т-хелперы – CD3+CD4+ (Beckman Coulter, № А07750); Т-супрессоры и киллеры – CD3+CD8+ (Beckman Coulter, № А07757); натуральные киллеры – CD3–CD56+CD16+ (Beckman Coulter, № А07735); Т-киллеры – CD3+CD56+CD16+ (Beckman Coulter, № А07415).

При дальнейшем проспективном наблюдении определялось развитие рецидивов заболевания (возобновления опухолевого роста) и/или отдаленных метастазов, а также 3-летняя выживаемость. Срок наблюдения за больными составлял  $\geq 4$  лет после проведения курса СЛТ (в среднем  $4,9 \pm 0,2$  года).

Статистическая обработка результатов осуществлялась путем определения значимости различий абсолютных и относительных показателей между группами по критерию Стьюдента, при несоблюдении граничных требований параметрического анализа (нормальность распределения, равенство дисперсий) – по критерию Манна–Уитни.

### Результаты исследования

Одним из основных факторов консервативного лечения больных РШМ, влияющих на прогноз, является чувствительность новообразования, проявляющаяся степенью регрессии первичной опухоли при проведении терапии. Полученные нами в зависимости от схемы лечения данные по этому показателю представлены в табл. 1.

У обследованных больных группы сравнения в одинаковом числе случаев наблюдалось уменьшение объема опухоли на 50% и 50–75%, и только 25,0% пришлось на максимальную степень клинической эффективности СЛТ.

При дополнительном применении СИТ в большей части случаев отмечалась максимальная степень

Таблица 1. Степень регрессии первичной опухоли у обследованных больных РШМ в зависимости от проводимого лечения (%)

Группа больных	Степень регрессии опухоли					
	< 50%		50–75%		> 75%	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Группа сравнения, $n = 20$	8	$40,0 \pm 10,5$	7	$35,0 \pm 10,2$	5	$25,0 \pm 9,6$
Основная группа № 1, $n = 20$	5	$25,0 \pm 10,1$	6	$30,0 \pm 10,7$	9	$45,0 \pm 11,3$
Основная группа № 2, $n = 17$	3	$17,6 \pm 9,2$	4	$23,5 \pm 10,3$	10	$58,8 \pm 11,9^*$

\*Различия с группой СЛТ статистически значимы,  $p < 0,05$ .

**Таблица 2.** Особенности показателей клеточного звена иммунитета у больных РШМ III стадии при проведении СИТ в сочетании с АИТ

Показатели	Количество лимфоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ) в различных группах пациентов			
	Контрольная группа, $n = 45$	Группы больных РШМ III стадии		
		сравнения, $n = 20$	основная № 1, $n = 20$	основная № 2, $n = 17$
Лимфоциты общие	$2,10 \pm 0,09$	$1,53 \pm 0,10^*$	$1,57 \pm 0,09^*$	$1,95 \pm 0,09$
CD3+	$1,45 \pm 0,06$	$1,02 \pm 0,06^*$	$1,08 \pm 0,06^*$	$1,41 \pm 0,06\#$
CD3+CD4+	$0,89 \pm 0,05$	$0,69 \pm 0,06^*$	$0,73 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,05\#$
CD3+CD8+	$0,39 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02^*$	$0,30 \pm 0,02^*$	$0,36 \pm 0,02$
CD3–CD56+CD16+	$0,17 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01^*$	$0,10 \pm 0,01^*$	$0,15 \pm 0,01\#$
CD3+CD56+CD16+	$0,11 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,01^*$	$0,06 \pm 0,01^*\#$	$0,10 \pm 0,01\#$

\*Статистическая значимость различий с контролем.

#Статистическая значимость различий с группой сравнения,  $p < 0,05$ .

(> 75%) уменьшения объема опухоли и её полная редукция, при этом доля пациентов с меньшей степенью регрессии уменьшилась.

При использовании сочетания СЛТ + СИТ + АИТ минимальная степень регрессии была выявлена только в 17,6% случаев, а максимальная эффективность отмечалась в 58,8% (различия с группой СЛТ статистически значимы,  $p < 0,05$ ).

Особенности исследованных иммунологических показателей представлены в табл. 2.

Содержание общих лимфоцитов в крови больных группы СИТ + АИТ не имело значимых различий с контролем, превышая при этом на 24,2% показатель основной группы № 1 и на 27,5% – группы сравнения ( $p < 0,05$ ). Статистически значимое превышение числа CD3+ над показателями группы сравнения и основной группы № 1 составило 38,2% и 30,6%, соответственно,  $p < 0,05$ ).

В результате проведения СИТ на фоне АИТ наблюдалась полная нормализация содержания в крови Т-лимфоцитов-хелперов. Превышение по абсолютному показателю на группой сравнения было статистически значимым и составило 27,5% ( $p < 0,05$ ).

Отмечавшееся при лечении снижение абсолютно и относительного числа натуральных киллеров и НКТ-клеток было в значительной степени скомпенсировано при лечении. Степень превышения по отношению к группе сравнения по содержанию натуральных киллеров при применении СИТ составила 25,3%, СЛТ – 87,4% ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ), значимых различий с контролем не наблюдалось только при СЛТ.

По содержанию НКТ-клеток в основной группе 2 не было различий с контролем и наблюдалось значимое превышение над группой сравнения (на 150,7%,  $p < 0,01$ ).

Таким образом, численные показатели клеточного звена иммунной системы свидетельствуют о позитивном влиянии иммуноориентированной терапии, применяемой на фоне СЛТ. В табл. 3 показана частота рецидивов и метастазов у больных РШМ III стадии.

При РШМ III клинической стадии отмечалось снижение частоты рецидивов при проведении СИТ более чем в 1,5 раза, а при дополнительном назна-

**Таблица 3.** Частота развития рецидивов и поздних метастазов РШМ III стадии в зависимости от проводимого лечения (в течение 2 лет наблюдения)

Группа больных	Рецидивы		Поздние метастазы	
	абс.	%	абс.	%
Группа сравнения, $n = 20$	11	55,0	7	35,0
Основная группа № 1, $n = 20$	6	30,0	3	15,0
Основная группа № 2, $n = 17$	3	17,6*	2	11,8

\*Различия с группой СЛТ статистически значимы,  $p < 0,05$ .

**Таблица 4.** Сравнительный анализ 3-летней выживаемости больных обследованных групп в зависимости от проведённого лечения

Группа больных	Количество выживших больных	
	Абс.	%
Группа сравнения, $n = 20$	12	$60,0 \pm 10,5$
Основная группа № 1, $n = 20$	15	$75,0 \pm 9,9$
Основная группа № 2, $n = 17$	15	$88,2 \pm 7,8$

чении АИТ – в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ). Более чем в 2 раза снижалась частота поздних метастазов у больных подгруппы СЛТ + СИТ. Дополнительное включение рекомбинантного интерлейкина-2 (АИТ) в схему лечения (СЛТ + СИТ) способствовало трёхкратному снижению частоты рецидивов и поздних метастазов по сравнению с традиционной терапией ( $p < 0,05$ ).

По отношению к группе сравнения превышение 3-летней выживаемости в основной группе 1 составило 25,0 %, в основной группе 2 – 47,1 %, а между группами иммунотерапии – 17,6 % в пользу группы № 2.

Таким образом, комплексное лечение рака шейки матки III стадии, включающее лучевую и иммунотерапию (специфическую и адаптивную), приводит к достоверному увеличению клинической эффективности. Наиболее значимый эффект наблюдается при включении в адаптивную иммунотерапию рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина®), что приводит, наряду с нормализацией показателей клеточного звена иммунитета, к достоверному уменьшению объёма опухоли, снижению числа рецидивов и метастазов и повышению 3-летней выживаемости.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гуськова Е.А., Златник Е.Ю., Загора Г.И. Применение Ронколейкина и Реаферона для биотерапии рецидивного и генерализованного рака шейки матки. Росс. биотерапевт. журнал 2008; 7(1): 39–40.
2. Танатова З.А. Особенности и повышение эффективности лечения злокачественных новообразований репродуктивной системы женщин в регионе Семипалатинского ядерного полигона. Автореф. дис. ... д. м. н. Астана, 2007; 44 с.
3. Bermúdez-Morales V.H., Peralta-Zaragoza O., Madrid-Marina V. Gene therapy with cytokines against cervical cancer. Salud Publica Mex 2005; 47(6):458–68.
4. Michelin M.A., Murta E.F. Potential therapeutic vaccine strategies and relevance of the immune system in uterine cervical cancer. Eur J Gynaecol Oncol 2008; 29(1):10–8.
5. Plate J. Clinical trials of vaccines for immunotherapy in pancreatic cancer. Expert Rev Vaccines 2011;10(6):825–36.