



005062258

На правах рукописи

КЕНБАЕВА ДИНАРА КУМАРОВНА

**СПЕЦИФИЧЕСКАЯ И АДОПТИВНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ
ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ**

14.01.12 – онкология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

27 ИЮН 2013

Бишкек, 2013

Работа выполнена на базе АО «Медицинский университет Астана» Республика Казахстан

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор Лазарев Александр Федорович
доктор медицинских наук, профессор Манамбаева Зухра Алпысбаевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Султангазиева Бактыгуль Бекбоевна
доктор медицинских наук, профессор Красильников Сергей Эдуардович
доктор медицинских наук, профессор Аралбаев Рахатбек Туралыевич

Ведущая организация:

ГБОУ ВПО «Омская Государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 27 » июня 2013 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 730.001.03 в ГОУ ВПО «Кыргызско-Российский Славянский университет» (720000, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Киевская, 44. e-mail: dissovetKRSU@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Кыргызско-Российский Славянский университет» (720000, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Киевская, 44).

Автореферат разослан « 27 мая » 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Н.П. Ахунбаева

Сокращения, условные обозначения

АИТ – адоптивная иммунотерапия

ЖС – жизнеспособность

ИЛ – интерлейкин

ИФН – интерферон

ИС – индекс стимуляции

ИТМЛ – индекс торможения миграции лейкоцитов

НСТ-тест – тест с нитросиним тетразолием

ОЗ – общее здоровье

ПЗ – психическое здоровье

РФ – роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности

РШМ – рак шейки матки

ЦТЛ – цитотоксические лимфоциты

СА – социальная активность

СИТ – специфическая иммунотерапия

СЛТ – сочетанная лучевая терапия

СС – сравнение самочувствия с предыдущим годом

СЭТ – системная энзимотерапия

ТБ – телесная боль

ФА – физическая активность

ФНО – фактор некроза опухоли

ФЧ – фагоцитарное число

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки лимфоцитов)

IL – interleukin (интерлейкин)

NK – natural killer (натуральный киллер)

НКТ-лимфоцит - натуральный киллер Т-лимфоцит

6

Введение

Актуальность проблемы.

Распространенность и структура злокачественных новообразований в последние десятилетия имели существенную динамику. На фоне непрекращающегося роста распространенности онкологических заболеваний в популяции, обусловленного демографическими процессами и, возможно, неблагоприятными техногенными воздействиями, отмечалось не менее значительное изменение их структуры [Rodriguez C.S.A., Capurso G.M., 2006; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2009; Pautler M., Brenner S., 2010]. Если в 60-70 гг. прошлого века отмечалось явное преобладание числа соматических опухолей, причем нескольких основных локализаций (рак легких, желудка, пищевода, кожи), то к началу нынешнего столетия на передний план выдвинулись новообразования гормонозависимых органов женской репродуктивной системы [Edwards D., Bell J., 2000; Hogben R.K., 2008]. Поэтому аспекты их патогенеза и лечения вызывают в настоящее время большой интерес [Whitcomb B.P., 2008; Trimble E.L. et al., 2010].

Одним из наиболее перспективных направлений в исследованиях этиологии и патогенеза злокачественных новообразований вообще и опухолей органов женской репродуктивной системы в частности является изучение роли иммунной системы [Melichar B., 2006; Bellati F., 2009]. В настоящее время в развитых странах продолжается «бум» иммуноонкологических исследований и связанных с ними разработок способов лечения [Moiseyenko V., 2007; Grivennikov S.I., 2010; Jenq R.R., 2010; Grupp S.A., 2011; Bremnes R.M., 2011].

Несмотря на наличие ряда работ по иммунотерапии больных со злокачественными новообразованиями в России и Казахстане [Танатова З.А., 2007; Лубенников А.Е., 2009], практически никакого внимания этому направлению в практической онкологии не уделяется. Иммунокоррекция остается необязательным компонентом вспомогательной терапии, применяемым практически исключительно при развитии осложнений (лейкопения). Другие аспекты, в частности специфическая иммунотерапия злокачественных новообразований, являющаяся кардинальным направлением в зарубежной онкологической науке и практике, используются только в крупнейших клиниках, но не в широкой практике.

В зарубежной научной литературе содержатся данные, позволяющие сделать однозначный вывод о высокой эффективности применения способов иммунотерапии для лечения злокачественных новообразований различных локализаций, включая рак почек, рак желудка, периферические и центральные формы рака легких [Yang J.C., 2006; Murala S., 2010; Amedei A., 2011].

Однако сохраняется и значительное число нерешенных проблем. Малоизученными остаются, в частности, взаимоотношения различных методов лечения, а именно – противоопухолевой терапии и специфической иммунотерапии. До настоящего времени недостаточно изучены вопросы целесообразности и эффективности стимуляции иммунитета в процессе проведения специфической иммунотерапии [Козлов В.К., Молчанов О.Е., 2002; Макаров О.В., 2010].

Кроме того, практически нет сведений об эффективности иммунотерапии опухолей органов женской репродуктивной системы, в том числе – рака шейки матки (РШМ).

Наше исследование направлено на уточнение некоторых аспектов иммунопатогенеза рака шейки матки и совершенствование иммунотерапии этого заболевания.

Ряд фрагментов работы выполнен в рамках прикладной научно-технической программы Ц.0382 «Разработка современных технологий для формирования кластера по биотехнологии в Республике Казахстан на 2006-2008 годы».

Цель работы.

Повышение эффективности лечения больных раком шейки матки путем применения специфической и адоптивной иммунотерапии.

Задачи исследования.

1. Определить показатели системы иммунитета у больных раком шейки матки в зависимости от клинической стадии заболевания и выявить клинико-иммунологические взаимосвязи.

2. Изучить влияние противоопухолевой терапии на показатели различных звеньев системы иммунитета при раке шейки матки.

3. Разработать метод специфической и адоптивной иммунотерапии при раке шейки матки.

4. Определить направленность и степень воздействия специфической и адоптивной иммунотерапии на показатели различных звеньев системы иммунитета.

5. Изучить клинические результаты лечения больных раком шейки матки при применении специфической и адоптивной иммунотерапии.

6. Определить показания к клиническому применению специфической и адоптивной иммунотерапии у больных раком шейки матки различных клинических стадий.

Научная новизна.

Проведено комплексное исследование состояния иммунной системы у больных раком шейки матки при проведении противоопухолевой терапии. Конкретизированы изменения механизмов клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия (цитокиновой регуляции).

Впервые у больных раком шейки матки использован способ специфической иммунотерапии, включающий реинфузию аутолимфоцитов, инкубированных с опухолевым антигеном и интерлейкином-2, и осуществлена оценка его воздействия на механизмы иммунной реактивности. При его применении выявлена зависимость эффективности специфической иммунотерапии от исходного иммунного статуса, его динамики при применении основных методов противоопухолевого лечения.

Впервые осуществлена клинко-иммунологическая оценка применения сочетания специфической и адоптивной иммунотерапии (ронколейкин + флогэнзим) при раке шейки матки. Определена положительная модуляция системы иммунитета, проявляющаяся в активации клеточных и гуморальных механизмов, оптимизации функционирования регуляторных систем (цитокинового баланса).

Установлена положительная клиническая эффективность применения сочетания специфической и адоптивной иммунотерапии, превышающая по непосредственным и отдаленным результатам как эффекты противоопухолевой терапии рака шейки матки без применения иммунотерапии, так и лечения, включающего использование только специфической иммунотерапии.

Практическая значимость.

Основными аспектами практической значимости работы являются:

- уточнение клинической значимости результатов иммунологического исследования при раке шейки матки, определение необходимости применения и формулирование показаний к использованию специфической и адоптивной иммунотерапии;

- рекомендации к широкому клиническому применению модифицированного способа специфической иммунотерапии, а также ее комбинации с разработанным способом адоптивной иммунотерапии при лечении рака шейки матки;

- разработка, клиническая апробация и внедрение подхода комбинированной активации противоопухолевого иммунитета, который заключается в сочетании специфической и адоптивной иммунотерапии, что обеспечивает улучшение условий для противоопухолевой терапии и повышение ее результатов.

- снижение частоты осложнений лучевой терапии, увеличение продолжительности безрецидивного периода, снижение частоты рецидивов и метастазов, увеличение выживаемости и качества жизни больных при применении способа, сочетающего специфическую и адоптивную иммунотерапию.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Больные со злокачественными новообразованиями шейки матки характеризуются наличием комплекса изменений со стороны иммунной системы, выражающихся в угнетении эффекторных и дисбалансе регуляторных механизмов, более выраженном при поздних стадиях заболеваний.

2. В динамике оперативного, комбинированного и сочетанного лучевого лечения наблюдается однонаправленное снижение численных и функциональных показателей иммунной системы, вплоть до формирования комбинированного вторичного иммунодефицита с угнетением клеточных, фагоцитарных и дисбалансом регуляторных механизмов.

3. Применение специфической иммунотерапии при лечении рака шейки матки активирует противоопухолевый иммунитет, однако, обеспечивает данный эффект только при отсутствии вторичного иммунодефицитного состояния, сопровождающегося снижением показателей клеточного иммунитета.

4. При наличии вторичного иммунодефицитного состояния целесообразно дополнительное применение методов адоптивной иммунотерапии, позволяющих

улучшить общий иммунный статус и повысить эффективности специфической иммунотерапии.

5. Применение специфической иммунотерапии показано при раке шейки матки ранних стадий, а сочетания специфической и адоптивной иммунотерапии оправдано при лечении II-III клинических стадий, когда наблюдается снижение иммунного статуса на фоне проведения лучевой терапии.

Личное участие автора в получении результатов

Личное участие автора в исполнении диссертационной работы заключается в: участии совместно с научными консультантами в разработке научного направления, темы исследования, основных подходов к диагностике и лечению; в подборе больных в условиях клиник г.Астана и г.Семей для включения в группы исследования; осуществлении клинического обследования больных, получении материала для лабораторных исследований участие в интерпретации комплекса полученных клинических и параклинических данных в рамках диагностического и лечебного процесса; получение материалов для проведения иммунологических методов исследования; статистический научный анализ, полученных результатов иммунологических исследований; осуществление иммунотерапии у больных основных групп; анализ литературных данных, формирование обзора; описание работы. Личный вклад соискателя в диссертацию составляет 80%.

Реализация результатов исследования. Публикации

Результаты работы внедрены в практическую деятельность в Региональном онкологическом диспансере г.Семей, Городском онкологическом диспансере г.Астана. По теме диссертации опубликовано 38 научных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК РФ – 17 статей.

Апробация работы:

Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях с международным участием «Достижения современной онкологии» (Барнаул, 2010); «Высокие технологии в онкологии» (Барнаул, 2012), на международной юбилейной конференции «Достижения и перспективы развития современной онкологии и радиологии» (Алматы, 2010); на XV международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Дубай, 2010), на VI съезде

онкологов и радиологов стран СНГ (Душанбе, 2010); на VII съезде онкологов и радиологов стран СНГ (Астана, 2012).

Апробация диссертационной работы проводилась на заседании проблемной комиссии по хирургическим дисциплинам при АО «Медицинский университет Астана».

Объем и структура диссертации:

Диссертация изложена на 317 страницах компьютерного набора, состоит из введения, 5 разделов основной части, выводов и практических рекомендаций, списка литературы, включающего 333 наименования, содержит 93 таблицы, 32 рисунка.

Материалы и методы исследования

Общая характеристика больных и методов исследования

Работа проведена за период 2007-2011 гг. на базе АО «Медицинский университет Астана» (до 2009 г. – Государственная медицинская академия г.Астана), на клинических базах Регионального онкологического диспансера №2 г.Семей, Городского онкологического диспансера г.Астана и Алтайского краевого онкологического диспансера г.Барнаул.

Исследования проведены в три этапа. На первом из них осуществлена оценка иммунологических особенностей у больных раком шейки матки (РШМ), их динамики при проведении противоопухолевой терапии и связи с клиническим течением злокачественных новообразований. На втором этапе проведено исследование клинико-иммунологической эффективности применения методики специфической иммунотерапии. На третьем этапе исследованы возможности использования в терапии злокачественных новообразований сочетания специфической и неспецифической иммунотерапии.

Критерии включения больных в исследование предусматривали: наличие РШМ I-III ст. при первичном обследовании; возраст от 30 до 70 лет; осуществление хирургического лечения и/или сочетанной лучевой терапии в качестве основного лечения; наличие информированного согласия пациенток на проведение комбинированного лечения, включающего специфическую и адоптивную иммуноте-

рапию, а также на анонимное использование полученных данных в рамках научного исследования.

Критерии исключения предусматривали: возраст менее 30 и более 70 полных лет; отсутствие информированного согласия пациентки или отказ ее от участия в исследовании на любом этапе кроме последнего (представление обработанной информации); наличие тяжелых соматических заболеваний (острые формы ИБС, неконтролируемая артериальная гипертензия III ст., хроническая сердечная недостаточность II ФК и выше, бронхиальная астма, хронический обструктивный бронхит и хроническая обструктивная болезнь легких, сопровождающиеся хронической дыхательной недостаточностью II ФК и выше), хронический гломерулонефрит, пиелонефрит, сопровождающиеся хронической почечной недостаточностью, системные заболевания (системная красная волчанка, ревматоидный артрит и др.); летальный исход в течение первых 3 месяцев после первичного исследования.

Клиническая характеристика обследованных больных

Всего в рамках проведенного клинко-иммунологического исследования обследованы 222 больных РШМ, подвергавшихся хирургическому лечению и противоопухолевой специфической терапии. Из них было 105 пациентов (47,3%), подвергавшихся оперативным вмешательствам и 117 больных (52,7%) – получавших только консервативное лечение. Все больные находились в возрасте от 30 до 70 лет.

Распределение больных по нозологиям и возрасту свидетельствовало, что среди пациенток РШМ отмечался высокий процент лиц молодого возраста (до 49 лет, 51,4%). Наиболее часто данная патология встречалась в пятилетиях 45-49 лет и 40-44 года. Средний возраст составил $(51,8 \pm 2,5)$ года.

В работе использовано следующее распределение больных РШМ на клинические стадии (в соответствии с классификацией TNM: IA стадия – T1aN0M0; IB стадия - T1bN0M0; IIA стадия - T2aN0M0; IIB стадия - T2bN0M0; III стадия – T1-2N1M0, T3N0-1M0.

Возрастная структура обследованных больных представлена в таблице 1.

В контрольную группу были включены 45 практически здоровых женщин в возрасте от 30 до 62 лет, добровольцев, предварительно обследованных с использованием комплекса физикальных, лабораторных и инструментальных методов

для выявления опухолевой патологии. Комплекс исследования для женщин контрольной группы предусматривал аналогичное иммунологическое обследование.

Таблица 1

Возрастная структура обследованных больных в зависимости от лечения

Возрастная группа	Основное лечение			
	хирургическое и комбинированное		сочетанная лучевая терапия	
	абс.	%	абс.	%
30-34 года	10	8,5	9	8,6
35-39 лет	16	13,7	10	9,5
40-44 года	18	15,4	14	13,3
45-49 лет	20	17,1	17	16,2
50-54 года	15	12,8	15	14,3
55-59 лет	13	11,1	15	14,3
60-64 года	13	11,1	14	13,3
65-70 лет	12	10,3	11	10,5

Распределение больных по стадии РШМ представлено в таблице 2.

Таблица 2

Распределение обследованных больных по стадии заболевания

Стадия									
IA		IB		IIA		IIB		III	
абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
24	10,8	31	14,0	50	22,5	60	27,0	57	25,7

Для верификации диагноза всем больным проведено гистологическое исследование биоптата с определением степени дифференцировки, по гистологической структуре преобладает плоскоклеточный рак с ороговением – 116 (52,2%), плоскоклеточный рак без ороговения - 98 (44,1%), аденокарцинома у 7 (3,2%), недифференцированный рак у 1(0,5%).

Методы лечения

У больных РШМ хирургическое лечение является основным на ранних стадиях заболевания (IA-IB), в то время как лучевая терапия — самостоятельный метод или в сочетании с оперативным вмешательством — широко используется при лечении местно-распространенного РШМ. Выбор метода лечения РШМ IB-IIa ста-

дий в настоящее время различается: в ряде случаев выполняется операция с последующей дистанционной гамма-терапией (ДГТ) с или без химиотерапии, а в некоторых – только химиолучевое лечение. Для IIВ и III клин. стадии применялся преимущественно сочетанная лучевая терапия (СЛТ).

Хирургическое лечение. У больных по клиническим показаниям проводились: гистерэктомия I типа (простая гистерэктомия) и гистерэктомия II типа (модифицированная гистерэктомия по Я.В. Бохману, расширенная гистерэктомия) – при РШМ IA стадии; гистерэктомия III типа (операция Мейгса, Вертгейма-Мейгса, Вертгейма, расширенная радикальная гистерэктомия) – при РШМ IIВ и IIIА стадиях.

Иммунотерапия

Схема активной специфической иммунотерапии (СИТ) предусматривала активацию иммунокомпетентных клеток и их стимуляцию опухолевым антигеном.

Осуществлялся забор 50 мл нативной венозной крови. Для предотвращения свертывания непосредственно после взятия добавлялся гепарин. Осуществлялось выделение лейкоцитов из крови путем центрифугирования на градиенте фиколюверографии (плотность 1,076) раздельно в 5 пробирках по 10 мл.

Полученные на градиенте лейкоциты переносили в общую пробирку с питательной средой (раствор Хенкса или среда 199), далее – повторно выделяли на аналогичном градиенте плотности. Снятые с градиента лейкоциты ресуспендировали в питательной среде объемом 10 мл. В среду добавляли 10000 МЕ IL-2 (ронколейкин 0,01 мг) и инкубировали в термостате при 37°C в течении 6 часов.

Биопсийный материал новообразования в объеме 2-3 мл разводили в 10 мл дистиллированной воды и гомогенизировали ультразвуковым гомогенизатором мощностью 500 Вт (Cole Parmer, США) в течение 15 минут, что гарантировало полное разрушение клеточных элементов при сохранении основных белковых антигенных детерминантов. Для гарантии исключения попадания неразрушенных клеток в организм материал подвергали фильтрации (фильтры NucleoSpin, Macherey-Nagel, Германия) с последующим центрифугированием (10000 g в течение 10 минут). Полученный гомогенат добавляли в количестве 1 мл на 5 мл питательной среды с лейкоцитами и инкубировали 12 часов. Далее полученную взвесь лейкоцитов разделяли на порции по 5 мл и выделяли на градиенте фиколю-

верографин, ресуспендировали в питательной среде трижды, окончательно выделили и вводили в организм реципиента путем внутривенной инъекции.

Способ адоптивной иммунотерапии (АИТ) осуществляли путем применения комбинации препаратов с различными механизмами действия на иммунную систему, а именно – препарата системной энзимотерапии флогэнзим (Mugos Pharm, Германия) и препарата рекомбинантного интерлейкина-2 ронколейкин («Биотех», Россия). Применение флогэнзима осуществлялось по схеме: 5 таблеток 3 раза в день в течение 3 суток, 4 таблетки 3 раза в день в течение 7 суток (доза насыщения) и далее по 3 таблетки 3 раза в день до 1 месяца. Препарат ронколейкин использован в дозе 200000-250000 МЕ/кг в течение 4 недель через 2 суток внутривенно капельно в 400 мл физиологического раствора (продолжительность инфузии – 4 часа) при пребывании пациентов в условиях стационара или в той же дозе подкожно в 2 мл физиологического раствора – при лечении в амбулаторных условиях.

Эффективность проводимого лечения оценивалась в динамике на основных этапах лечения – до лучевой терапии, при ДЛТ в СОД (т.А, т.В) 20 Гр и после завершения лечения. При этом учитывались следующие критерии – гинекологический осмотр; характер изменений опухолевого процесса по УЗ-данным; степень лечебного лучевого патоморфоза по данным цитологического метода; оценивалась токсичность, характер и выраженность общих и местных лучевых реакций и осложнений проводимой терапии; прослежены непосредственные и отдаленные результаты лечения.

Распределение больных в зависимости от нозологии, стадии и проведенного лечения представлено в таблице 3.

Численное распределение обследованных больных по терапевтическим группам было примерно равным.

У больных, подвергавшихся хирургическому лечению, СИТ проводили непосредственно после оперативного вмешательства, причем в качестве материала для подготовки гомогената использовали ткани удаленного новообразования. Повторное иммунологическое обследование при этом (в том числе и в группах сравнения) проводилось через 10 суток после вмешательства.

Распределение обследованных больных по нозологии стадии заболевания и проведенной иммунотерапии

Группа в зависимости от терапии	Стадия									
	IA		IB		IIA		IIB		III	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Базисная	14	58,3	17	54,8	18	36,0	21	35,0	20	35,1
Базисная + СИТ	10	41,7	14	45,2	15	30,0	20	33,3	20	35,1
базисная + СИТ + АИТ	-	-	-	-	17	34,0	19	31,7	17	29,8
Примечание – относительный показатель определен от численности каждой подгруппы (нозология/стадия)										

При проведении консервативного лечения иммунотерапия назначалась одновременно с СЛТ (при условии предварительного получения лимфоцитов и ткани опухоли), а повторное обследование во всех случаях проводилось в срок завершения курса АИТ (т.е., через 1 месяц).

Методы исследования

Первичная диагностика и верификация диагноза осуществлялась с использованием комплекса методов, принятых в современных условиях и включенных в Протоколы диагностики и лечения. В их число входили стандартные подходы к врачебному обследованию больных, основанные на тщательном анализе анамнеза, жалоб и данных физикального обследования.

Рентгенологические исследования в условиях Регионального онкологического диспансера №2 г.Семей осуществлялись на аппарате Toshiba fluorex DUO-450, в Городском онкологическом диспансере г.Астана – на аппарате Italray Carmex 9F. Рентгенологические методы исследования были дополнены компьютерными томографическими исследованиями и магнитнорезонансными томографическими исследованиями (в г.Семей КТ Toshiba ASTEION (2001), МРТ «Siemens» Magnetom Avanto (2009), в г.Астана КТ «Siemens» Somatom Sensation 16 (2010)).

Цитологические исследования проведены на программном аппаратном комплексе «Leica DMLS» с увеличением x400 и x1000. Окраска взятого материала проводилась по методам Романовского-Гимза и Паппенгейма.

Определение опухолевого маркера Цитокератин-19 (CYFRA 21-1) осуществлялось иммуноферментным анализом на ИФА-анализаторе Элексис 2010 (диагностикум CYFRA 21-1-ИФА фирмы ХЕМА-MEDICA, Россия, K236).

Иммунологические методы

Число Т-лимфоцитов и клетки в зависимости от кластеров дифференцировки определялись методом иммунофлюоресценции.

В условиях Регионального онкологического диспансера в период исследования до 2009 г. окрашенные клетки просматривались с помощью флуоресцентного микроскопа. В условиях Городского онкологического диспансера г.Астана исследования проводили на проточном цитометре Beckman Coulter.

Для определения числа клеток, инфильтрирующих опухоль (КИО), осуществлялся подсчет их в суспензии, полученной из биоптата тканей, меченных теми же флуоресцирующими антителами, что и для периферической крови. Оценка осуществлялась в процентах относительно общего числа клеточных элементов в суспензии, подсчитываемых при разведении в 1000 раз.

Определялись следующие кластеры лимфоцитов с использованием диагностикумов Beckman Coulter: CD3+ - зрелые Т-лимфоциты (№A07746); CD3+CD4+ - Т-хелперы (№A07750); CD3+CD8+ - Т-цитотоксические (№A07757); CD3-CD56+CD16+ - натуральные киллеры (№A07735); CD3+CD56+CD16+ - НКТ-лимфоциты (№A07415); CD19+ - В-лимфоциты (№ 6603859); CD3+CD25+ - активированные Т-лимфоциты на ранней стадии активации (№IM3486U); CD95+ - преапоптотические активированные лейкоциты (№IM1504). Кроме того, были исследованы следующие соотношения: CD3+CD4+/CD3+CD8+ - иммунорегуляторный индекс; CD3+CD25+/CD95+ - индекс активации.

Реакцию торможения миграции лейкоцитов проводили по А.Г.Артемовой с определением индекса торможения (ИТМЛ). Количественное определение иммуноглобулинов осуществлялось методом радиальной иммунодиффузии в геле по G. Mancini et al. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке осуществлялось преципитацией полиэтиленгликолем по методу Ю.А.Гринкевич (1981). Содержание цитокинов (IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, ФНО- α) в

сыворотке крови определяли количественным иммуноферментным методом на аппарате «Униплан».

Содержание фагоцитирующих полинуклеаров (нейтрофилов и псевдоэозинофилов) определяли в латекс-тесте по Е.А.Кост и М.И.Стенко (1978). Фагоцитарным показателем считали процент нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз от общего количества нейтрофилов. Поглотительную способность клеток оценивали по двум показателям: проценту фагоцитоза, то есть по количеству фагоцитировавших клеток на 100 нейтрофилов, и по фагоцитарному числу (ФЧ). Фагоцитарное число было определено после 2 сроков инкубации: ФЧ₁ – 30 минут, ФЧ₂ – после 2-кратной отмытки физиологическим раствором и повторной инкубации в течение 2 часов. Тест с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) проводился по методу Нагоева Б.С. Показатель рассчитывался в процентном отношении ко всем фагоцитам.

Исследование качества жизни больных осуществлялось с использованием двух способов – в раннем периоде после завершения лечения – по шкале Карновского (http://bionco.ru/tables/carnovskyindex_scaleecog/), а в отдаленном периоде – с использованием русифицированной версии опросника SF-36.

При проведении статистического анализа результаты исследования вносились в базы данных, подготовленные в программе Microsoft Excel XP. Система обработки данных включала исключение результатов, не относящихся к ряду данных (по критерию Романовского), группировку данных по задаваемым критериям. При анализе использованы параметрические и непараметрические методы. Сравнение количественных признаков параметрическим методом проводилось с помощью критерия Стьюдента. Ограничения использования параметрического метода включали несоответствие распределения критерию Колмогорова-Смирнова и критерию равенства дисперсий по Пирсону. При несоблюдении данных критериев использованы непараметрические методы (в независимых выборках – по критерию Манна-Уитни, в динамике наблюдения – по критерию Вилкоксона). Оценка связи качественных признаков по величине инерции и оценка значимости этой связи осуществлялась путем расчета коэффициента корреляции по Спирмену. В качестве граничного критерия для опровержения нулевой гипотезы принимали $p < 0,05$.

Результаты исследования

Проведенное обследование больных РШМ с различными клиническими стадиями позволило нам определить группы пациентов, имеющие наибольшую потребность и получающих наибольшую пользу от иммунотерапии. Для использованных подходов к лечению таковой группой оказались пациентки с запущенными, но не терминальными стадиями РШМ (IВ-III клин. ст.).

Иммунотерапия у больных с ранними стадиями РШМ (IA-IIA) проводилась только посредством применения метода СИТ, т.к. в исходном периоде лечения не наблюдалось существенного угнетения клеточного иммунитета и других механизмов защитных систем. Использование данного подхода способствовало увеличению содержания иммуноцитов различных кластеров дифференцировки в крови, уменьшению или полной коррекции дисбаланса содержания цитокинов на фоне оперативных вмешательств или их сочетаний с ДГТ. Эти моменты могли способствовать улучшению отдаленных клинических результатов, что отражено ниже.

Данные, характеризующие динамику показателей клеточного иммунитета у больных РШМ IВ и III клин. ст. представлены в таблицах 4 и 5.

Численные показатели содержания иммуноцитов в крови у обследованных больных и их соотношения имели зависимость от проводимого лечения.

Число лейкоцитов в крови у пациентов всех групп было статистически значимо ниже, чем в контроле. Однако имелись и значимые различия между группами в зависимости от лечения. В частности, при проведении СЛТ+СИТ+АИТ данный показатель был выше на 31,8% ($p < 0,05$), чем только при СЛТ. Значимыми были также различия между группами СЛТ+СИТ и СЛТ+СИТ+АИТ (21,9%, $p < 0,05$).

По абсолютному числу общих лимфоцитов не было статистически значимого снижения в группах СЛТ+СИТ и СЛТ+СИТ+АИТ, в отличие от СЛТ. В то же время, относительного уменьшения числа CD3+ клеток не было только в группе, где проводилась адоптивная иммунотерапия, причем, превышение над показателем при СЛТ составило 26,9% ($p < 0,05$). Значимые различия прослеживались по числу натуральных киллеров и НКТ-клеток. По первому из указанных показателей степень превышения над уровнем в группе СЛТ была статистически значимой в обеих группах иммунотерапии (на 36,4% и 81,8% соответственно, $p < 0,05$), по второму

– только при проведении АИТ (на 66,7%, $p < 0,05$). Относительно более высоким, чем в группе СЛТ, оказалось также содержание CD19+ клеток.

Число CD3+CD25+ имело резкое превышение в группе СЛТ+СИТ+АИТ над уровнем больных, получавших только СЛТ (на 87,5%, $p < 0,01$), но кроме того и над показателем в группе СЛТ+СИТ (на 62,5%, $p < 0,05$), тогда как численное содержание преапоптотических клеток практически не отличалось от уровня в контроле. Соответственно, имелось значимое превышение среднего значения соотношения CD3+CD25+/CD95+ только в группе проведения АИТ (на 84,6%, $p < 0,01$).

Таблица 4

Показатели клеточного иммунитета при РШМ IIВ ст. в зависимости от лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РШМ IIВ ст.		
		СЛТ, n=21	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=19
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,51±0,31	3,93±0,23**	4,25±0,23**	5,18±0,28*#
Лимфоциты общ., $\times 10^9/\text{л}$	2,10±0,09	1,70±0,09*	1,93±0,09	2,12±0,09
CD3+, $\times 10^9/\text{л}$	1,45±0,06	1,08±0,05*	1,14±0,05*	1,37±0,06#
CD3+CD4+, $\times 10^9/\text{л}$	0,89±0,05	0,76±0,05	0,81±0,05	0,94±0,05
CD3+CD8+, $\times 10^9/\text{л}$	0,39±0,02	0,35±0,02	0,33±0,02*	0,37±0,02
CD3-CD56+CD16+, $\times 10^9/\text{л}$	0,17±0,01	0,11±0,01*	0,15±0,01#	0,20±0,01*#
CD3+CD56+CD16+, $\times 10^9/\text{л}$	0,11±0,01	0,06±0,01*	0,07±0,01*	0,10±0,01#
CD19+, $\times 10^9/\text{л}$	0,24±0,02	0,15±0,02*	0,19±0,02	0,21±0,02
CD3+CD25+, $\times 10^9/\text{л}$	0,21±0,01	0,14±0,01*	0,16±0,01*	0,26±0,01*##
CD95+, $\times 10^9/\text{л}$	0,91±0,07	1,08±0,07	1,05±0,08	1,09±0,07
CD3+CD4+/ CD3+CD8+	2,28±0,13	2,17±0,15	2,45±0,17	2,54±0,14
CD3+CD25+/CD95+	0,24±0,01	0,13±0,01**	0,16±0,02*	0,24±0,01#
ИТМЛ, %	27,5±1,0	38,5±1,7**	36,2±1,6*	31,9±1,2*#
Примечания: ЗДЕСЬ И ДАЛЕЕ * - различия с контрольной группой статистически значимы; # - различия с предшествующей группой статистически значимы (для СЛТ+СИТ – с СЛТ, для СЛТ+СИТ+АИТ – с СЛТ+СИТ); 1 знак – $p < 0,05$, 2 знака – $p < 0,01$				

В таблице 5 представлены аналогичные данные для больных РШМ III клин. стадии.

Показатели клеточного иммунитета при РШМ III ст. в зависимости от лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РШМ III ст.		
		СЛТ, n=20	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=17
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,51 \pm 0,31	3,68 \pm 0,26**	3,97 \pm 0,25**	4,83 \pm 0,29* [#]
Лимфоциты общ., $\times 10^9/\text{л}$	2,10 \pm 0,09	1,53 \pm 0,10*	1,57 \pm 0,09*	1,95 \pm 0,09 [#]
CD3+, $\times 10^9/\text{л}$	1,45 \pm 0,06	1,02 \pm 0,06*	1,08 \pm 0,06*	1,41 \pm 0,06 [#]
CD3+CD4+, $\times 10^9/\text{л}$	0,89 \pm 0,05	0,69 \pm 0,06*	0,73 \pm 0,05*	0,88 \pm 0,05 [#]
CD3+CD8+, $\times 10^9/\text{л}$	0,39 \pm 0,02	0,32 \pm 0,02*	0,30 \pm 0,02*	0,36 \pm 0,02 [#]
CD3-CD56+CD16+, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01**	0,10 \pm 0,01**	0,15 \pm 0,01 [#]
CD3+CD56+CD16+, $\times 10^9/\text{л}$	0,11 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01**	0,06 \pm 0,01*	0,10 \pm 0,01 [#]
CD19+, $\times 10^9/\text{л}$	0,24 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01**	0,14 \pm 0,02*	0,19 \pm 0,02
CD3+CD25+, $\times 10^9/\text{л}$	0,21 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01**	0,12 \pm 0,01**	0,20 \pm 0,01 ^{##}
CD95+, $\times 10^9/\text{л}$	0,91 \pm 0,07	1,15 \pm 0,07*	1,17 \pm 0,06*	1,12 \pm 0,06*
CD3+CD4+ / CD3+CD8+	2,28 \pm 0,13	2,16 \pm 0,16	2,43 \pm 0,18	2,44 \pm 0,15
CD3+CD25+ / CD95+	0,24 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01**	0,11 \pm 0,01**	0,18 \pm 0,01* [#]
ИТМЛ, %	27,5 \pm 1,0	46,9 \pm 2,5**	45,8 \pm 2,5**	37,5 \pm 1,7* ^{##}

Статистически значимое снижение содержания числа лейкоцитов относительно контроля было отмечено во всех группах больных, получавших противоопухолевое лечение, хотя имелось статистически значимое превышение этого показателя в группе СЛТ+СИТ+АИТ над СЛТ (на 31,3%, $p < 0,05$).

Не было значимых различий между контрольной группой и больными, подвергавшимися комбинированной иммунотерапии, по содержанию общих лимфоцитов, а значение показателя в последней группе статистически значимо превосходило уровень, наблюдавшийся при проведении только СЛТ (на 27,5%, $p < 0,05$). Аналогичные заключения можно сделать также по уровню CD3+ и CD3+CD4+ и CD3+CD8+ клеток.

Несмотря на то, что число натуральных киллеров и НКТ-клеток в группах СЛТ и СЛТ+СИТ было снижено в большей мере, чем при аналогичных методах лечения у больных со IIВ клин.стадией РШМ, дополнительное проведение АИТ обеспечивало отсутствие статистически значимых различий с контролем. При этом

число натуральных киллеров было выше, чем при СИТ, на 87,5%, а НКТ-клеток – в 2,5 раза ($p < 0,01$ в обоих случаях).

Значимыми ($p < 0,05$) были также различия между группами СЛТ+СИТ и СЛТ+СИТ+АИТ в пользу последней ($p < 0,05$). Следует отметить нивелирование различий с контролем по содержанию CD3+CD25+ при проведении СЛТ+СИТ+АИТ и значимое превышение данного показателя над уровнем группы СЛТ (на 81,8%, $p < 0,01$). Несмотря на превышение числа CD95+ клеток во всех группах больных над контролем, уровень индекса активации в группе комбинированной иммунотерапии был выше, чем при СИТ (на 80,2%, $p < 0,05$).

Также отмечалось относительное снижение ИТМЛ, средняя величина которого имела различия с группой СЛТ и СЛТ+СИТ (на 20,0% и 18,1%, $p < 0,05$, $p < 0,05$).

Анализ показателей гуморального звена включал определение содержания иммуноглобулинов основных классов, а также ЦИК. Остановившаяся на последних, необходимо подчеркнуть, что, по мнению ряда авторов, выраженное повышение их содержания вовсе не означает эффективного функционирования специфических иммунных механизмов. В случае новообразований, при которых гуморальный иммунитет имеет обычно минимальное значение, наличие большого количества ЦИК в крови означает вовсе не формирование противоопухолевой защиты, но нецеленаправленную и зачастую аутоиммунную реакцию, протекающую на фоне угнетения всех механизмов элиминации ЦИК. В условиях компарментов опухоли, на уровне микроциркуляции это также может способствовать маскировке антигенных детерминантов и даже в случае адекватного иммунного ответа – защите отдельных опухолевых клеток, способных впоследствии дать начало клонам, приводящим к развитию рецидивов или метастазов.

В ходе исследования было выявлено, что как до начала СЛТ, так и при проведении лучевой терапии у больных РШМ IIВ и III клин. ст. отмечалось умеренное снижение содержания иммуноглобулинов в крови и, одновременно, повышение концентрации ЦИК. На фоне СЛТ достигало степени статистической значимости относительное снижение содержания IgA и IgM, более выраженное при III ст. Напротив, в этой же группе отмечалось максимальное превышение содержания в крови ЦИК. Проведение СЛТ+СИТ способствовало относительному уменьшению

различий по содержанию иммуноглобулинов в крови с контрольной группой, но не ЦИК. В группе комбинированной иммунотерапии отмечалось практическая нормализация содержания в крови иммуноглобулинов и статистически значимые различия с группами СЛТ и СЛТ+СИТ по концентрации ЦИК в сторону снижения.

Исследованные показатели фагоцитоза при использовании трех основных способов лечения больных РШМ ПВ, III клин. ст. представлены в таблицах 6-7.

Таблица 6

Показатели фагоцитоза у больных РШМ ПВ ст. в ходе лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РШМ ПВ ст.		
		СЛТ, n=21	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=19
Фагоцитоз, %	25,6±1,7	27,4±1,9	32,6±2,3*	30,8±2,1*
ФЧ1	4,4±0,2	4,7±0,2	5,1±0,2*	4,7±0,3
ФЧ2	0,9±0,1	3,1±0,4**	2,3±0,3*	1,5±0,1 [#]
ФЧ2/ФЧ1	20,5±1,7	66,0±5,9**	45,1±4,0** [#]	31,9±2,2** [#]
НСТ спонт.	17,5±1,4	16,6±1,4	21,6±1,8 [#]	23,6±1,1 [#]
НСТ стим.	26,2±1,8	21,8±1,6	26,4±1,9	32,2±1,5 [#]
ИС НСТ, %	49,7±3,5	31,3±2,4*	22,2±1,7** [#]	36,4±2,0**

Средние значения показателей фагоцитарной активности у больных ПВ клин. стадии в ходе лечения свидетельствовали о наличии умеренной активации. Заметна была также неполная функциональность клеток данной системы, до определенной степени компенсирующаяся в результате иммунотерапии. Так, значимое превышение относительного содержания фагоцитирующих клеток над показателем контрольной группы отмечалось в обеих группах иммунотерапии. Величина ФЧ1 практически не различалась с контрольной у больных групп СЛТ и комбинированной иммунотерапии, тогда как ФЧ2, отражающее степень лизиса субстрата, и соотношение ФЧ2/ФЧ1 статистически значимо превышали соответствующий показатель контрольной группы (более чем в 3 раза – при проведении СЛТ и на 66,7% и 55,6% соответственно – в группе СЛТ+СИТ+АИТ). При иммунотерапии соответствующие показатели были значимо ниже, чем при проведении СЛТ (на 25,8% и 31,7% - при СЛТ+СИТ и 51,6% и 51,9% - СЛТ+СИТ+АИТ, $p < 0,05$ во всех случаях).

Величина среднего показателя как спонтанного, так и стимулированного НСТ-теста была значимо выше, чем в группе СЛТ при проведении обоих методов иммунотерапии.

У больных РШМ III ст. не было существенных различий с контролем по показателю фагоцитоза вне зависимости от проводимого лечения. Величина ФЧ1 также практически не зависела от терапии. Напротив, лизис субстрата был замедлен. Показатель ФЧ2 в группе СЛТ превосходил контрольный в 4 раза, соотношение ФЧ2/ФЧ1 – в 4,1 раза, соответствующие различия в группе СЛТ+СИТ составили 3,3 и 3,1 раза, а превышение в группе комбинированной иммунотерапии – 88,9% и 76,9% соответственно ($p < 0,01$ во всех случаях).

Таблица 7

Показатели фагоцитоза у больных РШМ III ст. в ходе лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РШМ III ст.		
		СЛТ, n=20	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=17
Фагоцитоз, %	25,6±1,7	21,8±1,9	26,5±2,0	28,2±2,5
ФЧ1	4,4±0,2	4,4±0,2	4,8±0,2	4,7±0,3
ФЧ2	0,9±0,1	3,7±0,2**	3,0±0,2** [#]	1,7±0,2** [#]
ФЧ2/ФЧ1	20,5±1,7	84,1±6,9**	62,5±5,2** [#]	36,2±2,8** [#]
НСТ спонт.	17,5±1,4	14,1±1,5	19,5±1,7 [#]	22,5±1,6
НСТ стим.	26,2±1,8	19,1±1,8*	23,7±2,0	31,8±2,5 [#]
ИС НСТ, %	49,7±3,5	35,5±3,1*	21,5±2,7** [#]	41,3±3,1** [#]

Отмечались и значимые различия между группами. Показатель ФЧ2/ФЧ1 в группе СЛТ+СИТ был на 25,7% ниже, чем при СЛТ, а в группе СЛТ+СИТ+АИТ – на 57,0% ниже ($p < 0,05$), что свидетельствует о менее выраженном угнетении функции фагоцитирующих клеток, связанном с наличием опухоли и облучения.

Показатели НСТ-теста также имели определенное превышение при проведении иммунотерапии над группой СЛТ, более выраженное в группе СЛТ+СИТ+АИТ.

Фагоцитарное звено иммунитета, хотя по современным представлениям и не имеет прямого влияния на развитие новообразования и механизмы противоопухолевой защиты, тем не менее, является одним из факторов противоопухолевой резистентности. Достаточно напомнить то, что первичное распознавание антигенов

осуществляется клетками фагоцитарно-макрофагальной системы. Кроме того, клеточные элементы именно этого звена являются наиболее метаболически активными и подвержены неблагоприятному воздействию факторов специфической терапии. Поэтому исследование фагоцитоза в анализе состояния иммунной системы при новообразованиях дает два информативных компонента – условие формирования противоопухолевого иммунитета и степень угнетения иммунной системы.

Выявление роли механизмов межклеточного взаимодействия в формировании иммунитета позволило сформировать еще одну группу информативных показателей для определения степени его угнетения и эффективности различных подходов к иммунотерапии. В плане противоопухолевого иммунитета, по мнению различных исследователей, наибольший интерес представляет ряд интерлейкинов, стимулирующих клеточную пролиферацию и дифференцировку, а также выработку антител или оказывающих тормозящее воздействие на различные механизмы иммунной системы, а также параметры баланса про- и противовоспалительных цитокинов [Ara T., 2010; Sato T., 2011; Srivastava S., 2010]. Исходя из данных исследований зарубежных и отечественных авторов, в качестве информативных показателей для оценки регуляторных факторов межклеточного взаимодействия может быть использовано определение ряда цитокинов: IL-2, IL-8, IL-10, IL-12, ФНО-альфа, каждый из которых имеет доказанное действие на комплекс механизмов клеточного звена иммунитета [Diepold M., 2008; Yang Y., Luo C., 2011].

Результаты анализа содержания цитокинов в крови у обследованных больных представлены в таблицах 8 и 9.

Таблица 8

Показатели содержания цитокинов при РЦИМ ПВ ст. в ходе лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РЦИМ ПВ ст.		
		СЛТ, n=21	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=19
IL-2, пг/мл	11,3±0,5	7,5±0,3**	8,2±0,5**	9,0±0,7
IL-6, пг/мл	7,3±0,4	3,9±0,3**	4,9±0,4*#	8,4±0,5##
IL-10, пг/мл	8,5±0,4	8,0±0,4	7,6±0,4	8,1±0,3
IL-12, пг/мл	2,3±0,2	6,2±0,4**	6,1±0,3**	4,7±0,2*#
ФНО-α, пг/мл	4,4±0,3	7,9±0,5**	9,5±0,5**#	9,1±0,6**

Со стороны содержания цитокинов прослеживались однонаправленные по группам и статистически значимые различия показателей с контролем. Так, отмечалось снижение концентрации IL-2, составившее 33,6% в группе СЛТ и 27,4% - СЛТ+СИТ ($p<0,01$ в обоих случаях), тогда как в группе СЛТ+СИТ+АИТ статистически значимых различий с контролем не было. Аналогично, очень значительное (на 46,6% и 32,9% по отношению к контролю) снижение содержания IL-6 в группах пациентов, не получавших АИТ, при проведении последней было компенсировано, причем различия с группой СЛТ составили 115,4% ($p<0,01$). Напротив, содержание IL-10 в крови не имело существенных особенностей ни в одной из групп обследованных пациенток. Со стороны содержания IL-12 было зарегистрировано значительное превышение показателей контрольной группы. Так, у больных, подвергавшихся СЛТ, степень такового составила 169,6%, СЛТ+СИТ – 165,2%, и только в последней группе была несколько ниже – 104,3% ($p<0,01$ во всех случаях). Различия по данному показателю были значимыми между группами СЛТ и СЛТ+СИТ+АИТ (на 24,2%, $p<0,05$). Также превышением характеризовалось содержание в крови ФНО- α . По данному показателю различия с контролем были наибольшими в группе СЛТ+СИТ (115,9%, $p<0,01$). И хотя у больных, получавших только СЛТ, отмечалась наименьшая степень увеличения данного показателя, статистически значимых различий между группами не было.

Таблица 9

Показатели содержания цитокинов при РШМ III ст. в ходе лечения

Показатели	Контрольная группа, n=45	Больные РШМ III ст.		
		СЛТ, n=20	СЛТ+СИТ, n=20	СЛТ+СИТ + АИТ, n=17
IL-2, пг/мл	11,3±0,5	6,9±0,3**	7,3±0,3**	8,5±0,6*
IL-6, пг/мл	7,3±0,4	3,3±0,2**	4,4±0,3** [#]	6,7±0,4 ^{##}
IL-10, пг/мл	8,5±0,4	7,0±0,4*	6,9±0,4*	7,4±0,5*
IL-12, пг/мл	2,3±0,2	10,7±1,1**	8,5±0,6**	5,3±0,3** [#]
ФНО- α , пг/мл	4,4±0,3	11,0±0,9**	12,8±0,8**	10,0±0,6** [#]

У больных РШМ III клин. стадии степень выраженности снижения содержания IL-2 в крови была значительной и составила в группе СЛТ – 38,9%, СЛТ+СИТ – 35,4% и СЛТ+СИТ+АИТ – 24,8% ($p<0,01$; $p<0,01$; $p<0,05$ соответственно). Боль-

шей была степень снижения концентрации IL-6, достигавшая 54,6% и 39,7% в группах СЛТ и СЛТ+СИТ соответственно ($p<0,01$; $p<0,01$). Применение АИТ обеспечивало отсутствие значимых различий с контролем и превышение показателя на 103,0% над уровнем в группе СЛТ ($p<0,01$). Отмечалось умеренное, но статистически значимое снижение содержания IL-10 в первых двух клинических группах. Концентрация IL-12 у обследованных больных была увеличена. Так, степень превышения составила в группе СЛТ 4,75 раза, СЛТ+СИТ – 3,7 раза, СЛТ+СИТ+АИТ – 2,3 раза ($p<0,01$ во всех случаях), тогда как различия между первой и последней группами достигали 50,5% ($p<0,05$). Также повышенным было содержание в крови ФНО- α , в наибольшей степени это проявлялось в группе СЛТ+СИТ (в 2,9 раза), а в наименьшей – СЛТ+СИТ+АИТ (в 2,27 раза).

Механизмы формирования противоопухолевого иммунитета включают в качестве первичного и важнейшего этапа распознавание опухолевых антигенов, которые должны быть для этого отличными от макромолекулярных структур клеток здорового организма. К сожалению, опухолевые клетки зачастую не имеют распознаваемых поверхностных антигенов, которые могли бы быть определены в качестве чужеродных. Кроме того, многие исследователи до настоящего времени полагают, что распознавание даже имеющихся поверхностных опухолевых антигенов затруднено комплексом факторов, непосредственно ассоциированных с ростом новообразования и его морфофункциональными особенностями, а также с недостаточной активностью защитных систем макроорганизма. Так, указывается на блокирование завершения реакций гуморального иммунитета за счет большого числа клеток опухоли относительно ресурсов подсистемы фагоцитоза и протеолитических комплексов плазмы крови, «защиту» опухолевых клеток фибриновыми образованиями и т.д. [Franco O.E., 2010; Ibeanu O.A., 2011; O'Callaghan D.S., 2010].

Поэтому, как мы полагаем, анализ состояния различных звеньев иммунной системы в динамике различных вариантов лечения представляет большое научное и практическое значение. Оно является тем более существенным, что по нашему глубокому убеждению новообразование именно на фоне проведения противоопухолевой терапии является наиболее уязвимым для воздействия иммунной системы. При гибели клеток опухоли, происходящей под действием облучения или агентов химиотерапии, обнажаются антигенные детерминанты, в том числе спе-

цифические мембранные и/или внутриклеточные. Сопровождающая процесс распада опухолевой ткани воспалительная реакция привлекает в очаг иммунокомпетентные клетки. Эти два момента обуславливают гораздо более высокую вероятность развития специфических иммунных реакций, чем вне противоопухолевой терапии.

К сожалению, неблагоприятное влияние самих методов противоопухолевой терапии делает иммунную систему в этот момент наименее способной к формированию и реализации противоопухолевой активности.

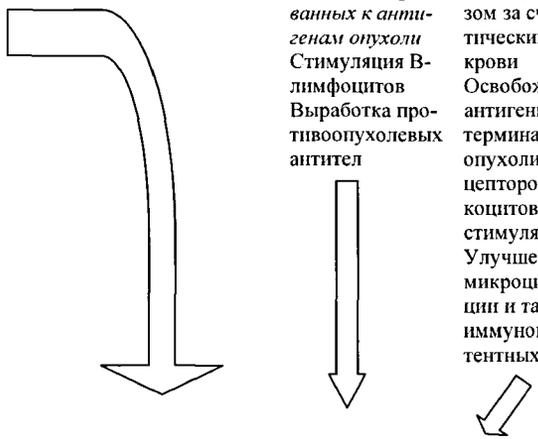
Резонным выходом представляется одновременное с проведением специфической противоопухолевой терапии применение стимуляции иммунокомпетентных клеток *in vitro*, т.е. в условиях, когда они не подвергаются угнетающему действию специфических методов лечения (рисунок 1).

Хочется особо подчеркнуть целесообразность использования метода иммунотерапии в сроки проведения специфической противоопухолевой терапии. В нашей работе мы не имели возможности рассмотреть в сравнительном плане эффективность применения иммунотерапии в начале или при завершении курса лучевой терапии, но на основании общих соображений (меньшая степень угнетения иммунных механизмов *in vivo* и больший объем опухолевой ткани, находящейся под действием специфической терапии) представляется более адекватным использование ее в начале лечения.

Определение клинических результатов лечения рака шейки матки с применением способов иммунотерапии осуществлялось посредством анализа комплекса показателей, включающего динамическое наблюдение за состоянием опухоли с использованием УЗИ и рентгенологических методов и биопсии с морфологическим исследованием (определение степени патоморфоза клеток опухоли).

Метод иммуно-терапии	СИТ		АИТ	
Сущность метода	Инкубация иммунокомпетентных клеток с опухолевым антигеном и стимулятором пролиферации/дифференцировки Реинфузия стимулированных лейкоцитов		Стимуляция пролиферации, дифференцировки и функциональной активности иммунокомпетентных клеток <i>in vivo</i>	
Действующие факторы	опухолевый антиген	IL-2	IL-2 (ронколейкин)	препарат СЭТ (флогэзним)
Эффекты	распознавание и презентация антигена, дифференцировка клона клеток с противоопухолевой активностью	стимуляция пролиферации и, в первую очередь, дифференцировки клеток	стимуляция пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников, индуцированных реинфузированными <i>in vitro</i> лейкоцитами	реактивация клеток фагоцитарно-макрофагального ряда, оптимизация распознавания и презентации опухолевого антигена <i>in vivo</i> , нормализация продукции цитокинов
Результат	формирование активированного клона (клонов?) клеток с противоопухолевой активностью. Стимуляция выработки противоопухолевых антител		выработка достаточного количества клеток-киллеров, <i>сенситивизированных к антигенам опухоли</i> Стимуляция В-лимфоцитов Выработка противоопухолевых антител	адекватное завершение реакции «антиген-антитело» полным протеолизом за счет литических систем крови Освобождение антигенных детерминантов опухоли и рецепторов лейкоцитов, их стимуляция Улучшение микроциркуляции и таксиса иммунокомпетентных клеток
Исход	Улучшение функционирования иммунной системы и условий для полной элиминации опухолевых клеток ее механизмами			

Рисунок 1 – Сочетанная иммунотерапия при злокачественных новообразованиях



В большинстве клинических случаев у обследованных больных отмечалась частичная регрессия первичной опухоли по данным ультразвукографического или рентгеновского томографического исследования (таблицы 10-11).

Таблица 10

Степень регрессии первичной опухоли шейки матки IIВ стадии
в зависимости от лечения

Группа больных в зависимости от лечения	Степень регрессии					
	<50%		50-75%		>75%	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
СЛТ, n=21	6	28,6±9,9	8	38,1±10,6	7	33,3±10,3
СЛТ + СИТ, n=20	4	21,1±9,4	4	21,1±9,4	11	57,9±11,3
СЛТ + СИТ + АИТ, n=19	2	10,0±6,7	3	15,0±8,0	15	75,0±9,7*

Примечание - * - различия с группой СЛТ статистически значимы, p<0,05

Так, наибольшее относительное число больных с минимальной степенью регрессии (менее 50%) было выявлено при проведении только СЛТ, а регрессия объема более 75% наблюдалась только в 1/3 случаев против 75,0% - при сочетанной иммунотерапии (p<0,05).

Таблица 11

Степень регрессии первичной опухоли при РШМ III стадии (в %)

Группа больных в зависимости от лечения	Степень регрессии					
	<50%		50-75%		>75%	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
СЛТ, n=20	8	40,0±10,5	7	35,0±10,2	5	25,0±9,6
СЛТ + СИТ, n=20	5	25,0±10,1	6	30,0±10,7	9	45,0±11,3
СЛТ + СИТ + АИТ, n=17	3	17,6±9,2	4	23,5±10,3	10	58,8±11,9*

Примечание - * - различия с группой СЛТ статистически значимы, p<0,05

У больных III клин. стадии отмечалась аналогичная картина – 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 степень регрессии увеличивалась незначительно и статистически незначимо, однако в большей части случаев отмечалась максимальная степень (более 75%) уменьшения объема опухоли и ее полная

редукция. Еще более значительные изменения выявлены при сочетанной терапии с использованием 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 значимы, $p < 0,05$).

Таким образом, дополнительное использование способов лечения, влияющих на состояние иммунитета, позволило добиться улучшения непосредственных результатов проведения специфической противоопухолевой терапии при РШМ.

При сравнении результатов, полученных в группах больных, получавших только специфическую противоопухолевую терапию и комбинированное лечение с включением иммунотерапии, выявлено, что во втором случае местные постлучевые реакции развивались значительно реже и были менее выраженными. Так, при РШМ IIВ клинической стадии они достигали тяжелой степени только в 1 случае (4,8%), тогда как в группе сравнения отмечались 10 локализаций тяжелого поражения кожи и слизистых оболочек у 6 больных (31,6%, $p < 0,05$). У 5 больных III клин.ст., получавших только СЛТ, имелось 10 тяжелых постлучевых реакций различных локализаций (25,0%). Среди основной группы они имелись в 2 случаях (1 ректит и 1 эпидермит), т.е. 11,8% ($p < 0,05$).

Снижение частоты и тяжести местных постлучевых реакций в основной группе позволило добиться большего числа полностью завершенных курсов сочетанной лучевой терапии по отношению к группе сравнения.

Патоморфоз опухолевых тканей при воздействии ионизирующего излучения, определяемый при цитологическом исследовании, является одним из показателей эффективности СЛТ. Высокая степень патоморфоза обычно ассоциируется с хорошей эффективностью и малой вероятностью повторного роста опухоли.

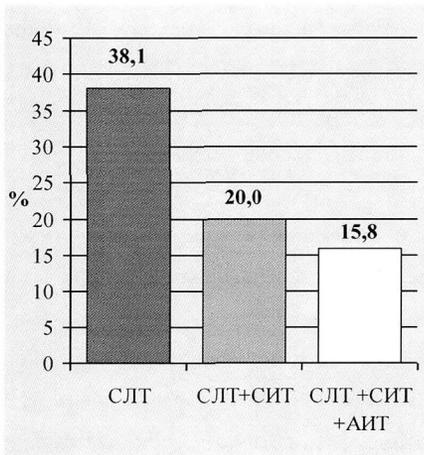
При использовании разработанных способов иммунотерапии у обследованных больных РШМ отмечалось увеличение степени лучевого патоморфоза по отношению к применению только СЛТ. Выявлены статистически значимые различия по частоте патоморфоза I ст. – в сторону снижения при проведении иммунотерапии и III-IV ст. – в сторону повышения.

Таким образом, применение способов иммунотерапии у больных РШМ способствовало повышению влияния СЛТ на клетки опухоли. Возможны два взаимно

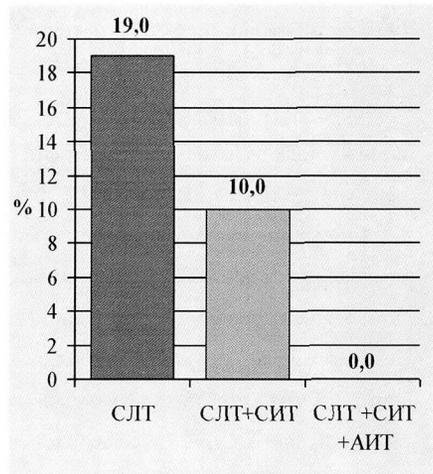
дополняющие объяснения этого эффекта. Во-первых, само по себе включение в комплекс лечения тех методов АИТ, которые использованы в работе, обеспечивало улучшение условий для СЛТ, о чем свидетельствуют также исследования других отечественных и зарубежных авторов [Исайчев А.К.; Попович А.М., 2002].

Во-вторых, нельзя исключать повышения роли непосредственного воздействия иммунных механизмов уже на этапах лучевого лечения.

Важнейшим критерием эффективности лечения злокачественных новообразований является частота развития рецидивов и поздних метастазов, как отдаленных, так и регионарных. Именно этот фактор главным образом определяет продолжительность и качество жизни онкологических больных, причем и подвергавшихся хирургическому лечению, и консервативной терапии (рисунки 2 и 3).



рецидивы



отдаленные метастазы

Рисунок 2 - Частота развития рецидивов и поздних метастазов РШМ IIВ стадии в зависимости от проводимого лечения (в течение 2 лет наблюдения)

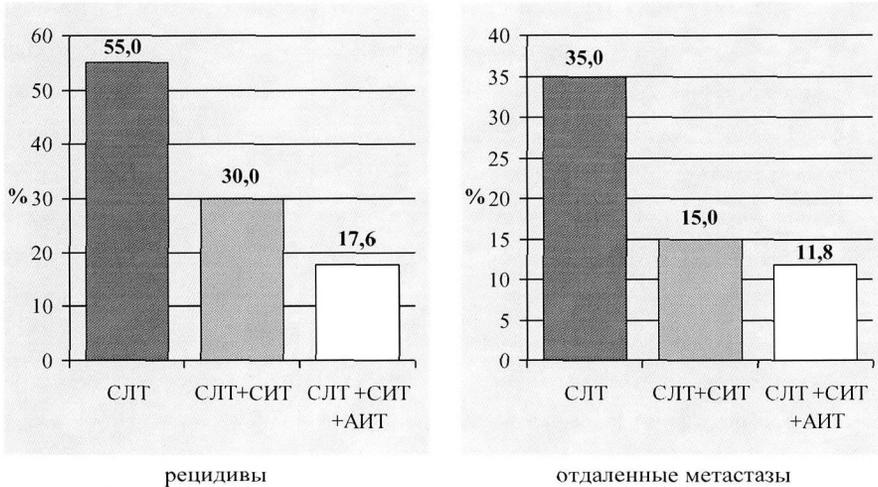


Рисунок 3 - Частота развития рецидивов и поздних метастазов РШМ III стадии в зависимости от проводимого лечения (в течение 2 лет наблюдения)

Исходя из концепции работы, предусматривающей учет роли иммунной системы в окончательной элиминации и/или подавлении роста злокачественного новообразования после противоопухолевой терапии, мы выдвинули гипотезу о наличии позитивного влияния иммунотерапии на отдаленные результаты. Данная гипотеза была подтверждена результатами проспективного наблюдения за пролеченными пациентками всех клинических групп.

Всего было 3 случая нахождения метастазов у женщин с РШМ IV клин. стадии группы сравнения в период до 2 лет (медиана наблюдения $1,8 \pm 0,1$ года). При применении схемы «комбинированное лечение+СИТ» имелся только 1 случай выявления регионарного метастаза (7,1%). По суммарной частоте рецидивов различия с группой «комбинированное лечение» были статистически значимы, $p < 0,05$. У больных со IIА клин. стадией группы сравнения было 4 случая развития метастазов после радикального хирургического лечения (22,2%), в том числе 3 – регионарные. В группе «комбинированное лечение+СИТ» имелись 2 случая метастазов (13,3%), в том числе 1 – в отдаленной локализации, а при применении схемы «комбинированное лечение+СИТ+АИТ» не было ни одного случая выявленных рецидивов при среднем сроке наблюдения 2 года. У больных РШМ IV клин. ста-

дии при применении СИТ было выявлено двукратное снижение частоты рецидивов злокачественного новообразования относительно СЛТ. По частоте поздних (выявленных) метастазов различия групп СЛТ и СЛТ+СИТ достигало 2,7 раза, а групп СЛТ и СЛТ+СИТ+АИТ – 5,9 раза, т.к. в последнем случае метастаз в региональные лимфоузлы был выявлен только у одной пациентки. При III клин. стадии отмечалось снижение частоты рецидивов при проведении СИТ более чем в 1,5 раза, а в группе СИТ+АИТ – в 3,5 раза ($p < 0,05$). Частота поздних метастазов в группе СЛТ+СИТ была вдвое меньшей, чем при проведении только СЛТ, различия с группой СЛТ+СИТ+АИТ превышали трехкратные ($p > 0,05$).

Критерием оценки эффективности лечения больных со злокачественными новообразованиями органов женской репродуктивной системы, как и других локализаций, является динамика специфических онкомаркеров. Для РШМ в качестве одного из таковых принято обнаружение фрагмента Цитокератина 19 (CYFRA 21-1). Статистически значимое снижение содержания CYFRA 21-1 нами было зарегистрировано во всех группах после завершения курса СЛТ. Однако уровень динамики среднего показателя в группах был различным, в том числе при проспективном наблюдении. У больных, получавших только СЛТ, по группе в течение всего периода наблюдения сохранялось значимое превышение показателя над референсным уровнем. Через 2 года в этой же группе отмечалось повышение среднего значения показателя, статистически значимое по отношению к завершению курса и величине его на 6 месяцев (за счет рецидивов).

Использование иммунотерапии в обеих группах позволило добиться снижения содержания данного маркера и отсутствия его повторного роста в срок обследования 6 месяцев. При применении СЛТ+СИТ+АИТ степень снижения содержания CYFRA 21-1 была более значительной, чем при способе СЛТ+СИТ, а тенденция к росту показателя, характерная для последней группы, отсутствовала. Это свидетельствует о влиянии проведенного лечения с включением иммунотерапии на число самих клеток новообразования, сохраняющихся после лечения.

Анализ 3-летней выживаемости (рисунок 4) показал наличие её зависимости от проводимой терапии (исключая практически полную выживаемость пациенток с I стадией заболевания).

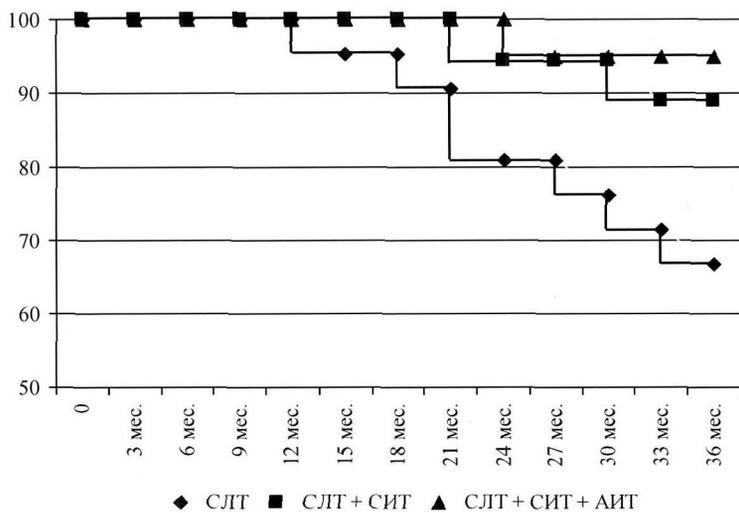


Рисунок 4 - Выживаемость больных РШМ IIВ стадии в зависимости от лечения

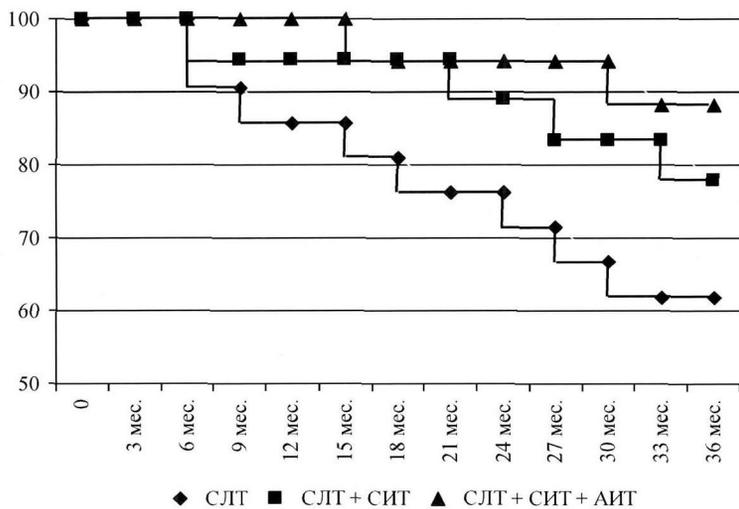


Рисунок 5 - Выживаемость больных РШМ III стадии в зависимости от проводимого лечения

Различия между подгруппами больных РШМ в зависимости от лечения в большинстве случаев не достигали степени статистической значимости. Имелось только незначимое превышение (в пределах 22-29%) по выживаемости больных ПВ ст. по отношению к группе СЛТ. Примерно такие же особенности были выявлены (рисунок 5) в подгруппе больных РШМ III ст. (18-27%).

В группах применения разработанных методов СЛТ и ее сочетания с АИТ у больных РШМ отмечалось значительное повышение 5-летней выживаемости.

Кроме того, мы сравнили общую 5-летнюю выживаемость по группам сравнения (суммируя их общую численность и число выживших) и в группах иммунотерапии. Неполная адекватность этого подхода в статистическом плане искупается его результативностью в нашем случае. Из 54 больных, находившихся под 5-летним наблюдением в группах сравнения, выжили 37, а из 67 пациенток в группах иммунотерапии – 54 (68,5% и 80,6% соответственно).

Для дополнительной объективизации клинической эффективности использованных методов лечения нами был проведен анализ качества жизни обследованных больных с использованием принятой в современной онкологии шкалы Карновского (таблица 12) и, кроме того, в более позднем периоде наблюдения – путем применения русифицированного и адаптированного варианта методики SF-36 (рисунок 6).

Таблица 12

Динамика качества жизни по шкале Карновского у больных РШМ III стадии в зависимости от проводимого лечения (через 6 мес.)

Группа больных в зависимости от лечения	-20 баллов		-10 баллов		0		+10 баллов		+20 баллов		+30 баллов	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
СЛТ, n=20	3	15,0	6	30,0	8	40,0	2	10,0	1	5,0	0	0
СЛТ + СИТ, n=20	0	0	1	5,0	8	40,0	6	30,0	3	15,0	2	10,0
СЛТ + СИТ + АИТ, n=17	0	0	1	5,9	4	23,5	7	41,2	4	23,5	1	5,9

Полученные в результате проведения оценки по шкале Карновского данные свидетельствовали о наличии определенного (по большинству параметров – стати-

стически незначимого) повышения качества жизни (улучшения субъективного состояния) в ходе применения разработанных способов иммунотерапии относительно применения только методик специфической противоопухолевой терапии. Эти данные коррелировали в первую очередь с показателями частоты осложнений, т.е. отражали именно данный фактор снижения качества жизни.

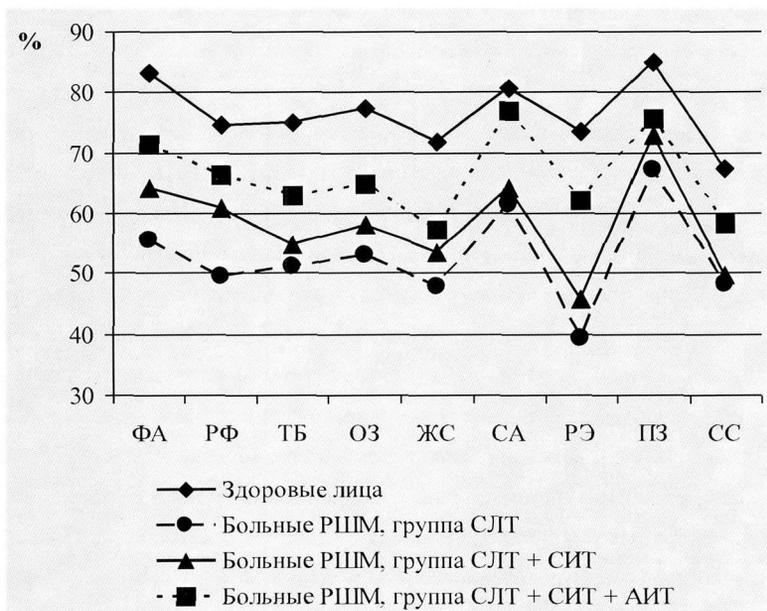


Рисунок 6 – Показатели качества жизни у больных РШМ, подвергавшихся СЛТ

В отдаленном периоде особенности качества жизни, определенного по методике SF-36, характеризовали общее относительно улучшение состояния у женщин, подвергавшихся разработанной комплексной терапии.

Следует учитывать тот факт, что основной компонент снижения качества жизни приходился на пациенток с развившимися (и выявленными) эпизодами роста новообразования и/или выявлением поздних отдаленных метастазов, потребовавших повторного стационарного лечения.

В остальных случаях уровень качества жизни зависел в большей степени от индивидуальных особенностей пациенток, сопутствующих заболеваний и в значительной степени нивелировался. Поэтому превышение показателей качества жизни в основной группе было связано главным образом с уменьшением частоты случаев прогрессирования первичной опухоли и метастазирования.

В целом проведенный анализ наиболее четко свидетельствует о клинической эффективности применения разработанных методов иммунотерапии у больных со злокачественными новообразованиями шейки матки.

Выводы

1. У больных раком шейки матки имеется комплекс нарушений со стороны иммунной системы - снижение активности механизмов клеточного иммунитета (уменьшение содержания натуральных киллеров и Т-киллеров в крови; дисбаланс показателей гуморального иммунитета с ростом продукции ЦИК; активация фагоцитоза с уменьшением функционального резерва и литической способности клеток; дисбаланс регуляторных цитокиновых механизмов с преобладанием провоспалительной активности (ФНО- α); наличие прямой зависимости степени нарушений от стадии злокачественного новообразования.

2. Оперативное и комбинированное лечение рака шейки матки ранних стадий связано с умеренным угнетением ряда компонентов иммунной системы, в первую очередь, клеточных, с одновременной активацией фагоцитоза и образования иммунных комплексов. Проведение сочетанной лучевой терапии сопровождается прогрессирующим снижением показателей механизмов клеточного иммунитета (в первую очередь – содержания цитотоксических клеток); уменьшением численных показателей и функциональной активности фагоцитарных механизмов; угнетением механизмов межклеточного взаимодействия, по ряду показателей в ходе СЛТ развивается иммунодефицитное состояние.

3. Применение разработанного способа специфической иммунотерапии активированными *in vitro* лимфоцитами при раке шейки матки оказывает комплексное стимулирующее воздействие на численные и функциональные показатели иммунной системы, наблюдается повышение абсолютного содержания натуральных киллеров и Т-киллеров, а также относительного – в тканях новообразования (на 29,5% и 15,2% при IIB стадии и 18,7% и 27,4% - при III стадии соответственно). Выявле-

на динамика к нормализации показателей фагоцитарного звена и содержания иммунорегуляторных цитокинов.

4. Разработанный способ специфической иммунотерапии улучшает отдаленные результаты лечения, выражающиеся в повышении 3-х и 5-летней выживаемости (на 4,6% и 3,8% в сравнении со стандартными способами лечения) при операбельных стадиях рака шейки матки. При раке шейки матки IIВ-III стадий разработанный способ оказывал существенное позитивное влияние только на поздние результаты лечения больных, что определяется увеличением 3-х и 5-летней выживаемости (на 33,0% и 71,0%), но практически не отражается на ранних результатах, связанных с недостаточной эффективностью, побочными результатами лечения, в том числе угнетением функции иммунной системы.

5. Использование разработанного способа специфической и адоптивной иммунотерапии при СЛТ сопровождается активацией общих и противоопухолевых механизмов иммунной системы - повышением числа иммунокомпетентных клеток в крови, преимущественно натуральных киллеров и Т-киллеров (на 20,9%, 42,9% при IIВ и 49,7% и 20,2% при III клинической стадиях) и в ткани опухоли (на 60,7% и 30,3% при IIВ и 20,2% и 12,5% при III стадии), увеличением содержания ранних форм активированных лимфоцитов и снижением – преапоптотических активированных клеток (CD95+), активацией фагоцитоза, нормализацией баланса иммунорегуляторных цитокинов в крови.

6. Применение разработанного способа специфической и адоптивной иммунотерапии обеспечивает значительное улучшение клинических результатов лечения, что выражается у больных с операбельными формами заболевания (IIА клиническая стадия) в отсутствии рецидивов и поздних метастазов, повышении выживаемости, статистически не значимом. У больных, получавших СЛТ, отмечен рост степени регрессии первичной опухоли, лучевого патоморфоза (увеличение частоты IV ст. патоморфоза в среднем на 20%), снижение частоты постлучевых реакций и осложнений (26,3% и 29,4%), рецидивов и метастазов (в среднем на 59,0%). Увеличение показателей 3-х и 5-летней выживаемости больных, получавших специфическую и адоптивную иммунотерапию, было более выраженным (на 12,8% и 3,8%), чем в группе СИТ.

7. Показаниями для проведения иммунотерапии являются: снижение показателей клеточного звена иммунной системы, в особенности Т-киллеров и натуральных киллеров; снижение функционального состояния фагоцитарного звена. Применение СИТ показано при операбельных стадиях, а схемы СИТ+АИТ – у больных с IIВ-III клиническими стадиями рака шейки матки. Применение разработанных подходов иммунотерапии требует использования комплекса методов иммунологического исследования и учета его результатов.

Практические рекомендации:

1. Рекомендуется включение способов анализа противоопухолевых компонентов иммунитета (содержание Т-лимфоцитов киллерного звена, цитокинов, показателей фагоцитоза в комплекс методов исследования ввиду наличия явной зависимости течения и исходов лечения рака шейки матки от исходного состояния и динамики показателей иммунитета.

2. Методика стимуляции противоопухолевого иммунитета путем инкубации нативных лейкоцитов с гомогенатом биоптата опухолевой ткани и препаратом интерлейкина-2 способствует коррекции недостаточности клеточных противоопухолевых механизмов и улучшению клинических результатов, что позволяет рекомендовать ее в комплексе лечения рака шейки матки всех стадий.

3. Рекомендуется сочетание ронколейкина и флогэнзима при IIВ и III стадиях рака шейки матки, что основано на угнетении противоопухолевых иммунных механизмов, которое может быть компенсировано применением адаптивной иммунотерапии, стимулирующей пролиферацию, дифференцировку Т-лимфоцитов и активность неспецифических механизмов иммунной системы.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Кенбаева, Д.К. Лучевая терапия и ее влияние на противоопухолевые компоненты иммунной реактивности у больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева // Наука и здравоохранение. – 2009. – №2. – С.158-160.
2. Кенбаева, Д.К. Характеристика иммунологической эффективности иммунотерапии при лечении больных раком шейки матки IIВ и III стадии [Текст] / Д.К. Кенбаева // Наука и здравоохранение. – 2009. – №2. – С.69-71.

3. Кенбаева, Д.К. Специфические противоопухолевые механизмы иммунитета у больных раком шейки матки и яичников как индикатор эффективности иммунотерапии [Текст] / Д.К. Кенбаева // Наука и здравоохранение. – 2009. – №3. – С.117-118.
4. Кенбаева, Д.К. Клинические результаты применения сочетанной иммунотропной терапии у больных раком шейки матки и яичников [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, З.А. Танатова // Наука и здравоохранение. – 2009. – №4. – С.75-79.
5. Кенбаева, Д.К. Цитокины у больных раком шейки матки: особенности содержания, динамика на фоне противоопухолевой терапии [Текст] / Д.К. Кенбаева // Астана Медициналык Журналы. – 2009. – №5 – С.264.
6. Кенбаева, Д.К., Гуморальные факторы иммунитета и фагоцитарные механизмы у больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, Р.К. Медеубаев // Астана Медициналык Журналы. – 2009. – №6. – С.74-76.
7. Манамбаева, З.А. Неспецифический фагоцитарный иммунитет при применении комплементарной иммунотерапии злокачественных опухолей шейки матки и яичников [Текст] / З.А. Манамбаева, А.К. Макишев, Д.К. Кенбаева, Р.К. Медеубаев, Г.А. Хазипова // Вестник медицинского центра Управления делами Президента РК. – 2010. – №3(36). – С.73-77.
8. Кенбаева, Д.К. Неспецифическая резистентность иммунной системы при раке шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева // Онкология и радиология Казахстана. – 2010. – Т. 15, №2. – С.28-29.
9. Кенбаева, Д.К. Влияние лучевой терапии на гуморальное звено иммунитета при раке шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, З.А. Манамбаева // Онкология и радиология Казахстана. – 2010. – Т. 15, №2. – С.30-31.
10. Кенбаева, Д.К. Состояние гуморального звена иммунной системы и степень распространенности рака шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева // Клиническая медицина Казахстана. – 2011. - №1. – С.55-58.
11. Кенбаева, Д.К. Особенности цитокиновой регуляции при злокачественных новообразованиях шейки матки и яичников [Текст] / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева, А.К. Макишев, Р.К. Медеубаев, Г.А. Хазипова // Медицина и экология. – Караганда. – 2011. - №2(59).- С.81-83.
12. Кенбаева, Д.К. Особенности показателей клеточного звена иммунной системы у больных раком шейки матки / Д.К. Кенбаева, З.А. Танатова, М.Д. Септенова // Матери-

алы XV международного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации. – Дубай, 2010. – С.166-167.

13. Кенбаева, Д.К. Специфическая иммунотерапия и гуморальный иммунитет при раке шейки матки / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева // Материалы Российской научно-практической конференции с международным участием «Достижения современной онкологии». – Барнаул, 2010. – С.140-141.

14. Кенбаева Д.К. Функциональная активность неспецифического звена иммунитета при злокачественных опухолях шейки матки / Д.К. Кенбаева // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. – Душанбе, 2010. – С.258.

15. Макишев, А.К. Цитокины у больных раком шейки матки: особенности содержания и динамика на фоне противоопухолевой терапии / А.К. Макишев, Д.К. Кенбаева, М.Е. Тулеутаев, Р.К. Медеубаев, К.А. Жакипбаев, М.К. Жагипаров // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. – Душанбе, 2010. – С.261.

16. Кенбаева, Д.К. Реакция клеточного звена иммунной системы на специфическую иммунотерапию / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. – Душанбе, 2010. – С.69.

17. Кенбаева, Д.К. Сочетанная иммунотропная терапия рака шейки матки и непосредственные клинические результаты / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, З.А. Манамбаева // Материалы международной юбилейной конференции «Достижения и перспективы развития современной онкологии и радиологии», Алматы, 2010. – С.29.

18. Манамбаева, З.А. Клеточная регуляция иммунотропной терапии рака шейки матки / З.А. Манамбаева, М.Н. Сандыбаев, А.К. Макишев, Д.К. Кенбаева // Материалы международной юбилейной конференции «Достижения и перспективы развития современной онкологии и радиологии», Алматы, 2010. – С.30.

19. Кенбаева, Д.К. Основные результаты применения сочетанной иммунотерапии и иммунокоррекции у больных раком шейки матки / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева, А.К. Макишев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. - №6. – С.18.

20. Кенбаева, Д.К. Иммунитет у больных раком шейки матки и эффективность противоопухолевой терапии [Текст] / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева // Вестник Новосибирского государственного университета. – 2012. – Т.10, выпуск 1. – С.103-110.

21. Кенбаева, Д.К. Иммуноterapia и выживаемость больных раком шейки матки и яичников [Текст] / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева, А.К. Макишев, С.А. Кабылова // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. - №1. – С.143-145.

22. Манамбаева, З.А. Применение иммунотерапии при лучевой терапии рака шейки матки / З.А. Манамбаева, Д.К. Кенбаева, Б.К. Куанова, К.Т. Жабагин, А.О. Сагнаева // Материалы XVI международной научной конференции «Онкология-XXI век». – Метц (Франция), 2012. – С.30.

23. Кенбаева, Д.К. Коррекция нарушений клеточного иммунитета у больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева // Медицина и образование в Сибири. – 2012. - №1.

24. Макишев, А.К. Гуморальные факторы иммунитета и фагоцитарные механизмы у больных раком шейки матки [Текст] / А.К. Макишев, Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева, Ф.Н. Каримова // Вестник Авиценны. – 2012. - №1. – С.62-66.

25. Кенбаева, Д.К. Влияние комплексной иммунотерапии у больных раком шейки матки на состояние клеточного иммунитета [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – Т. 7, №1. – С.56-60.

26. Кенбаева, Д.К. Клинические результаты применения сочетанной иммунотерапии у больных раком шейки матки и яичников [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, З.А. Манамбаева // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. - №2. – С.68-71.

27. Манамбаева, З.А. Показатели клеточных факторов иммунитета и цитокиновой регуляции у больных раком шейки матки [Текст] / З.А. Манамбаева, Д.К. Кенбаева, А.К. Макишев, М.Е. Тулеутаев, Е.В. Черепкова, Т.А. Адыханов // Медицинский Альманах. – 2012. – Т. 23, №4. – С.31-33.

28. Кенбаева, Д.К. Специфическая иммуноterapia и состояние клеточного иммунитета у больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.Ф. Лазарев, З.А. Манамбаева // Медицинская наука и образование Урала. - 2012. - №3. - С.22-25.

29. Кенбаева, Д.К. Особенности иммунотерапии при различном функциональном состоянии иммунной системы у больных раком шейки матки / Д.К. Кенбаева // Материалы Российской научно-практической конференции с международным участием «Высокие технологии в онкологии». – Барнаул, 2012. – С.146-147.

30. Кенбаева, Д.К. Обоснование применения препарата системной иммунотерапии в комбинированном лечении злокачественных новообразований шейки матки, вклю-

чающем иммунотерапию / Д.К. Кенбаева // Материалы Российской научно-практической конференции с международным участием «Высокие технологии в онкологии». – Барнаул, 2012. – С.147.

31. Кенбаева, Д.К. Выживаемость при иммунотерапии больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева // Медицина и образование в Сибири. – 2012. - №5.

32. Кенбаева, Д.К. Противоопухолевые компоненты иммунной реактивности у больных раком шейки матки и влияние на них лучевой терапии [Текст] / Д.К. Кенбаева // Медицина в Кузбассе. - 2012. – Т.11, №4. - С.46-49.

33. Кенбаева, Д.К. Клинико-иммунологический анализ специфической и сочетанной иммунотерапии больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.Ф. Лазарев // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2012. - №3-4. - С.147-150.

34. Кенбаева, Д.К. Показатели гуморального иммунитета у больных раком шейки матки при лучевой терапии и при сочетании ее с иммунотерапией [Текст] / Д.К. Кенбаева // Российский биотерапевтический журнал. - 2012. - №4. – С.59-62.

35. Кенбаева, Д.К. Специфическая иммунотерапия и состояние клеточного иммунитета у больных раком шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.Ф. Лазарев, З.А. Манамбаева // Медицинская иммунология. - 2013. - Т.15, №1.- С.55-60.

36. Кенбаева, Д.К. Особенности цитокиновой регуляции у больных злокачественными новообразованиями шейки матки и влияние противоопухолевой терапии [Текст] / Д.К. Кенбаева, З.А. Манамбаева // Российский онкологический журнал. – 2013. - №1. - С.36-38.

37. Кенбаева, Д.К. Клеточный иммунитет у больных раком шейки матки в процессе иммунотерапии [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.Ф. Лазарев, З.А. Манамбаева // Вестник РОНЦ им.Блохина РАМН. - 2012. - Т.23, №3. - С.24-28.

38. Кенбаева, Д.К. Показатели клеточного иммунитета при специфической иммунотерапии рака шейки матки [Текст] / Д.К. Кенбаева, А.Ф. Лазарев // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета 2013. - Т.13, №4. - С.117-122.



Подписано в печать 25.03.2013.
Формат 60X90/16. Бумага офсетная.
Печать ризографическая.
Гарнитура Таймс Нью Роман.
Тираж 100 экз. Объем 2,0 п. л. Заказ №128

ТОО «Издательство «Ямышевские ворота»
г. Семей, ул. Ч. Валиханова, 110-20