

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2007

УДК 618.11-006.6-08:615.37

Н.Ф. Емельянцева, И.И. Антонеева

ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ В ДИНАМИКЕ ТЕРАПИИ РОНКОЛЕЙКИНОМ

Кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии Ульяновского государственного университета

У 31 больной РЯ через 2-3 месяца после комплексного противоопухолевого лечения (курс полихимиотерапии и/или лучевой терапии) методами проточной цитофлуориметрии и твердофазного иммуноферментного анализа определяли в периферической крови содержание ЛФ и их субпопуляций, а также ФНО- α с целью оценки этих показателей в динамике иммунотерапии ронколейкином. Установлено, что у больных РЯ имеет место лейко-, и лимфоцитопения, а также достоверное снижение по сравнению с донорами CD3, CD4, CD8, CD16 и CD25 клеток и резкое повышение как спонтанной, так и индуцированной продукции ФНО- α , равно как и повышение ФНО- α в сыворотке крови. Показано, что через 7-9 дней после терапии

указанных больных ронколейкином отмечался незначительный лимфо-, и лейкоцитоз, а также нормализация количества CD3-клеток с $800,2 \pm 56,4$ до лечения до $1203,5 \pm 74,2$ после лечения; CD4- с $527,6 \pm 61,4$ до $714,2 \pm 48,1$; CD8- с $241,3 \pm 30,4$ до $390,2 \pm 14,8$ и CD25 — с $205,2 \pm 10,9$ до $321,8 \pm 12,6$ и резкое снижение ФНО- α : спонтанный уровень после лечения составил $41,4 \pm 2,1$ пг/мл, против $260,3 \pm 11,2$ пг/мл до лечения; индуцированный — $230,3 \pm 14,3$ пг/мл против $950,3 \pm 69,7$ пг/мл и в сыворотке крови — $65,0 \pm 6,3$ пг/мл против $107,9 \pm 12,4$ пг/мл. Различия статистически достоверны. Предполагаемое заключение: терапия ронколейкином больных РЯ в реабилитационном периоде способствует нормализации иммунного статуса.

Емельянцева Н.Ф. — директор Департамента здравоохранения и фармации Ульяновской области.

Антонеева И.И. — к.м.н., старший преподаватель кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии Ульяновского государственного университета, г. Ульяновск.

Вторичный иммунодефицит при злокачественных новообразованиях проявляется, главным образом, в снижении количественных и функциональных показателей клеточного иммунитета. Иммунный ответ нарушается как на этапе презентации антигена, так и на этапе реализации эффекторной функции. Данные о нарушении функции иммунокомпетентных клеток могут служить основанием для включения в программы лечения онкологических больных средств иммунотерапии, воздействующих на регуляторное и эффекторное звено иммунореактивности. Возникающая в результате стабилизация опухолевого процесса и регрессия опухолевого узла могут служить показателями успешности иммунотерапии.

В связи с вышеуказанным целью работы была оценена иммунная статус больных раком яичников (РЯ) в динамике терапии ронколейкином.

Иммунный статус исследовали у 31 больной, прошедшей комплексное противоопухолевое лечение (курс полихимиотерапии и/или лучевой терапии). Количество Т-лимфоцитов (ЛФ) (CD3+), Т-хелперов/индукторов (CD4+), Т-супрессоров/цитотоксических ЛФ (CD8+), естественных киллеров (CD16) и активационного маркера-субъединицы к рецептору ИЛ-2 (CD25+) — определяли на проточном цитофлуориметре «EPICS-C» (Coulter electronics, США-Франция) с использованием моноклональных антител «Ortho Diagnostic Systems» (США).

Для определения содержания ФНО- α исполь-

зовали набор Института особо чистых препаратов и метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

В результате выполненных исследований установлено, что у больных РЯ через 2-3 месяца после проведенного комплексного лечения показатели Т-клеточного иммунитета существенно и достоверно отличаются от нормы (рис.1).

После введения ронколейкина у больных отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение абсолютного содержания в крови лимфоцитов за счет увеличения субпопуляций CD3-клеток (с $819,4 \pm 48,4$ в 1 мкл перед лечением до $1233,8 \pm 88,3$ через 7-10 дней при норме — 900-1300 клеток) в 1,5 раза,

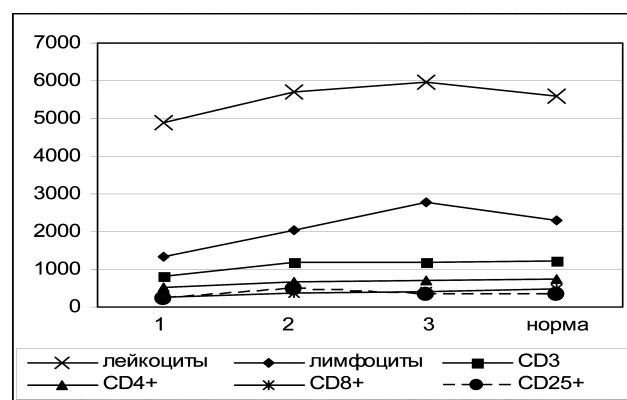


Рис.1. Относительные показатели иммунокомпетентных клеток в динамике иммунотерапии больных РЯ.

*Примечание: 1 — до введения ронколейкина;
2 — непосредственно после введения ронколейкина;
3 — через 7-9 дней после терапии ронколейкином.

CD4-клеток (с $572,1 \pm 46,3$ до $732,7 \pm 59,3$ при норме 450-850 клеток) в 1,27 раза, CD8-клеток (с $228,6 \pm 19,0$ до $377,1 \pm 22,6$ при норме 400-640 клеток) в 1,65 раза и CD25-клеток (с $219,0 \pm 18,7$ до $316,4 \pm 28,2$ при норме 200- 450 клеток в мкл) в 1,44 раза, что свидетельствовало о нормализации показателей основных иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих клеточный иммунитет.

Для оценки участия иммунной системы в противоопухолевом иммунитете важное значение имеет определение уровня в крови естественных киллеров, имеющих маркер — CD16. NK-клетки представляют собой основные эффекторы системы противоопухолевого иммунитета, распознающие опухоль-ассоциированные антигены и лизирующие опухолевые клетки, будучи не рестрированными по антигенам гистосовместимости I-II класса. Анализ динамики показателей CD16+ выявил достоверно ($p < 0,05$) низкий их абсолютный уровень ($41 \pm 3,9$ клеток в 1 мкл) у больных до начала иммунореабилитации и статистически значимое увеличение содержания ($104 \pm 7,3$ клеток в 1 мкл) после завершения терапии ронколейкином, хотя и оставался ниже нормативных показателей.

Достоверное повышение абсолютного числа CD4-лимфоцитов под влиянием иммунореабилитационной терапии свидетельствовало об усилении распознавания нативными Т-хелперами антигенов после их фагоцитоза и процессинга антиген-представляющими клетками (АПК).

Выявленное фоновое снижение абсолютного числа Т-цитотоксических/супрессорных клеток (CD8+), свидетельствовало о склонности онкобольных в послеоперационном периоде к аллергическим и аутоиммунным процессам. Иммунореабилитационная терапия статистически значимо восстанавливала абсолютное число CD8-лимфоцитов.

Иммунорегуляторный индекс представляет собой соотношение между CD4+ и CD8+ лимфоцитами в периферической крови. В норме он не должен быть меньше единицы, этот индекс отражает интегральную сбалансированность субпопуляционного состава лимфоцитов в рамках иммунной системы.

Как показал анализ, у больных в послеоперационном периоде до реабилитационной терапии и после ее окончания иммунорегуляторный индекс сохранялся в пределах нормальных значений.

Маркер CD25 несут Т-, В-, NK-лимфоциты, тимоциты и макрофаги. Выявленное нами снижение количества этих клеток до уровня нижней границы нормы, свидетельствовало о снижении их основной функции: активации пролиферации Т- и В-лимфоцитов, естественных киллеров, тимоцитов и макрофагов, а также рецептора для ИЛ-2. Иммунореабилитационная терапия ронколейкином привела к достоверному росту абсолютного числа CD25-лимфоцитов в 1,44 раза.

У больных в результате иммунореабилитационной терапии ронколейкином отмечено увеличение не только абсолютного числа, но и относительных показателей лимфоцитов, CD3-, CD16- и CD25-клеток (табл. 1). Однако, полученные нами данные, свидетельствовали о том, что не все относительные показатели в составе иммунокомпетентных клеток могут служить критерием оценки эффективности терапии, так как при росте абсолютного содержания CD4- и CD-8 лимфоцитов их относительные показатели не изменялись.

Таблица №1

Относительные показатели клеточного иммунитета у онкобольных в динамике лечения

Показатель	До лечения	Через 7-9 дней
Лимфоциты, %	$21,7 \pm 3,2$	$23,6 \pm 2,8$
CD3, %	$47,3 \pm 2,5$	$54,2 \pm 1,8$
CD4, %	$30,1 \pm 3,2$	$29,3 \pm 3,0$
CD8, %	$23,8 \pm 1,6$	$21,6 \pm 2,2$
CD16, %	$6,4 \pm 0,05$	$7,1 \pm 0,9$
CD25, %	$4,26 \pm 1,2$	$10,3 \pm 1,7$

Из группы цитокинов мы изучили динамику ФНО α (который уничтожает опухолевые клетки, не влияя на нормальные клетки, стимулирует пролиферацию эндотелиальных и эпителиальных клеток, стимулирует заживление ран), ИЛ-1 стимулирует воспалительные реакции, дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, увеличивает экспрессию рецепторов к ИЛ-2, активирует клетки эндотелия и ИЛ-2 (стимулирует дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, повышает цитотоксическую активность естественных киллеров, обеспечивающих уничтожение опухолевых клеток), принимающих наибольшее участие во многих патологических процессах, в том числе в онкопроцессе.

По нашим данным, у больных до начала иммунореабилитации имелось выраженное повышение уровня спонтанной и индуцированной продукции ФНО α ($260,3 \pm 11,2$ и $950,3 \pm 69,7$ пг/мл, соответственно), и лишь у 13,9% больных обнаруживался ФНО α в сыворотке крови ($107,9 \pm 12,4$ пг/мл). Непосредственно после введения ронколейкина продукция спонтанного ФНО α обнаруживалась лишь у 11,8% больных (средний уровень $113,9 \pm 6,04$ пг/мл), а индуцированная — в два раза ниже границ нормы выявлялась в сыворотке крови почти у половины больных (табл. 2).

Через 7-9 дней после реабилитационной терапии уровень спонтанной продукции ФНО α колебался в пределах нормы, а индуцированной — сохранялся ниже нормативных величин, выявляясь

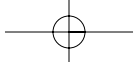


Таблица №2

**ФНО α (пг/мл) у больных онкопатологией
в динамике иммунореабилитации**

	Спонтанный	Индукцированный	В сыворотке
1	260,3 \pm 11,2	950,3 \pm 69,7	107,9 \pm 12,4
2	113,9 \pm 6,04*	280,6 \pm 20,9*	91,3 \pm 7,2*
3	41,4 \pm 2,11*	230,3 \pm 14,3*	65,0 \pm 6,3*
Норма	95,6 \pm 3,20	610,7 \pm 24,1	30,6 \pm 9,8

Примечание: 1 — до введения ронколейкина;
2 — непосредственно после введения ронколейкина;
3 — через 7-9 дней после терапии ронколейкином.
* по сравнению с показателями до начала терапии, различия достоверны при $p < 0,05$.

в сыворотке лишь у 10% больных. Динамика показателей продукции спонтанной и индуцированной продукции ФНО- α до и после лечения ронколейкином представлена в таблице №2.

Следовательно, продукция ФНО- α , являющегося острофазовым цитокином и участвующего в реализации неспецифического противоопухолевого ответа посредством воздействия на свертывающую систему крови и, в конечном итоге, в тромбировании капиллярной сети опухоли, претерпевает изменения в динамике иммунореабилитации. Так, обращает на себя внимание достоверное повышение индуцированной продукции ФНО- α по сравнению с нормой у больных в послеоперационном периоде.

Повышение возможности клеток продуцировать ФНО- α в ответ на антигенный стимул наиболее ярко выявляется при изучении отношения индуцированной продукции ФНО- α к спонтанной (индекс стимуляции). Индекс стимуляции ФНО- α у здоровых лиц составил 6,64, у больных до иммунореабилитации — 3,4, а после окончания лечения ронколейкином — 4,5.

Таким образом, выявленное нарушение продукции ФНО- α в ответ на антигенную стимуляцию у больных онкопатологией в послеоперационном периоде может быть связано с длительной гиперпродукцией ФНО- α эпителиальными клетками тимуса, поврежденного операционным стрессом, полихимио- и лучевой терапией с последующим нарушением аутокринной регуляции цитокина.

С другой стороны, особенностью обследованных нами онкобольных являлось повышение уровня ФНО- α в периферической крови по сравнению с нормой, что могло быть следствием как нарушения связывания цитокина со своим рецептором, так и — формирования тримеров ФНО- α , плохо выводящихся из циркуляции. Накопление в

циркуляции тримеров ФНО- α может приводить к постоянной активации не только клеток иммунной системы, но и других органов, а так же инициировать в них оксидативный стресс и апоптоз.

Следовательно, при оценке продукции ФНО- α , играющего важную роль в формировании онкопатологии, нами выявлены изменения в группе онкобольных в послеоперационном периоде в виде роста спонтанной и индуцированной продукции и появления циркулирующего цитокина в сыворотке крови.

Полученные нами результаты клинического применения ронколейкина не противоречат данными других авторов [1,2], согласно которым ронколейкин в отличие от других иммуноактивных препаратов практически лишен побочных эффектов.

Можно предположить, что в послеоперационном периоде создается определенный порочный круг. С одной стороны, стойкий иммунологический дисбаланс способствует реактивации инфекционной и соматической патологии сопутствующей онкогинекологическим заболеваниям, отягощая клиническое течение послеоперационного периода и ухудшая отдаленный прогноз, а с другой — прогрессирование патологии и нарастание в связи с этим компенсаторных реакций истощают метаболический фонд, адаптационные механизмы и процессы, усиливая вторичную иммунологическую недостаточность.

Мы полагаем, что в ряде случаев вторичная иммуносупрессия возникает не столько вследствие прямого поражения иммунокомпетентных клеток, сколько в результате избыточной стимуляции иммунной системы, ее патологической разбалансировки, нарушения необходимой взаимосоординации между регуляторными системами.

В результате проведенной иммунокоррекции ронколейкином больных РЯ в реабилитационном периоде достоверно повышалось количество лимфоцитов, в том числе CD3, CD4, CD8, CD25, значительно повышался уровень CD16 (естественных киллеров), которые являются основными клетками-эффекторами в системе противоопухолевого ответа; наблюдалась положительная динамика ФНО α , что являлось позитивным фактором в иммунокоррекции.

Литература:

1. Козлов В.К., Смирнов М.Н., Егорова В.Н., Лебедев М.Ф. Коррекция иммунореактивности рекомбинантным интерлейкином 2. // Пособие для врачей. СПб.— изд. СПбГУ.— 2001.— 24 с.
2. Скляр Л.Ф., Иванис В.А., Маркелова Е.В. Иммунотерапия ронколейкином хронического вирусного гепатита В.// Метод. рекомендации. Владивосток.— 2003. — 36 с.

Поступила 04.04.2007

