

**С.Г. Бугайцов**  
**А.И. Рыбин**

Одесский государственный  
медицинский университет

Одесский областной  
онкологический диспансер,  
Одесса, Украина

## ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

**Ключевые слова:** рак  
шейки матки, лечение,  
иммуномодулирующая терапия

**Резюме.** Представлены результаты изучения клинической эффективности применения оригинального отечественного иммуномодулятора, выделенного из молочнокислых бактерий, в комплексном лечении больных раком шейки матки. Установлено, что использование препарата на фоне послеоперационной лучевой терапии улучшает показатели как гуморального, так и клеточного иммунитета. Препарат хорошо переносится пациентками и не имеет побочных эффектов.

### ВВЕДЕНИЕ

При злокачественных опухолях, в том числе и органов репродуктивной системы женщин, происходит комплексное нарушение иммунного статуса организма, затрагивающее как гуморальное, так и клеточное звено иммунитета. Изменения в системе иммунитета больных онкологического профиля чрезвычайно сложны и нередко могут сопровождаться снижением функциональной активности различных клеток при генерализации процесса, а также у пациентов, получавших в процессе противоопухолевого лечения цитостатическую терапию, лучевую терапию, оперативное вмешательство. Эти виды лечения обуславливают выраженные нарушения иммунитета; часто диагностируют вторичный иммунодефицит, вызванный предшествующим лечением, нарушение лимфо- и миелопоэза, гибель иммунных клеток по типу некроза или чаще всего апоптоза, дисбаланс эффекторных и супрессорных клеток, уменьшение количества циркулирующих активных лимфоцитов, а также их гипофункцию [1–4].

Исходя из вышесказанного, применение иммунотерапии (ИТ) наряду со специальным лечением по поводу злокачественных новообразований является патогенетически обоснованным и актуальным.

Цель работы — изучение клинической эффективности использования ИТ в комплексном лечении пациенток с раком шейки матки на фоне проведения послеоперационной лучевой терапии (ЛТ).

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 50 пациенток с раком шейки матки IV стадии после курса послеоперационной ЛТ в режиме крупного фракционирования и операции Вертгейма. Больных рандомизировано разделили на 2 группы (25 женщин в каждой). В 1-й (основной) группе на фоне пос-

леоперационной ЛТ в стандартном режиме больным назначали иммуномодулятор, выделенный из клеток молочнокислых бактерий (Бластомунил «Энзифарм») [5]. Препарат назначали по 0,0006 г внутримышечно 1 раз в неделю в течение 5 нед. Первое введение проводили за 1 нед до начала курса послеоперационной ЛТ. 2-ю (контрольную) группу составили пациентки, которым не проводили ИТ на фоне послеоперационной ЛТ. Средний возраст женщин составил  $44,7 \pm 5,6$  года и достоверно не различался в обеих группах. Режимы и дозы послеоперационной ЛТ у пациенток основной и контрольной групп также не различались. Исследование характеристик гуморального и клеточного иммунитета проводили за 1 нед до начала и через 1 нед после окончания курса ЛТ.

Периферическую кровь для исследования (4 мл) получали путем пункции локтевой вены пациенток в асептических условиях (с помощью одноразовой стерильной инъекционной иглы, в стерильный одноразовый шприц, содержащий 0,05 мл раствора гепарина, 60 ЕД гепарина на 1 мл крови). Кровь в шприце хранили при комнатной температуре не более 5 ч до начала исследования, подготовку и окрашивание образцов крови для цитометрии проводили по безотмывочному протоколу, без выделения фракции лейкоцитов (No-Wash Lysis procedure, Caltag Laboratories Inc, DCO #000933, Rev, 10–02): кровь осторожно перемешивали, затем с помощью дозатора разносили по 100 мкл в 8 полипропиленовых пробирок для цитометрии («Partec», Германия); в соответствующие пробирки с помощью дозатора добавляли меченые моноклональные антитела (по 5–10 мкл в зависимости от типа антител) и перемешивали; все пробирки, содержащие смесь крови и антител, инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте; после инкубации в каждую пробирку добавля-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ли по 100 мкл лизирующего раствора Cal-Lyse («Caltag Laboratories Inc», США); затем вновь инкубировали все пробирки в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте; с целью лизиса эритроцитов в каждую пробирку добавляли по 1 мл деионизированной воды ( $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), после чего выдерживали пробирки при комнатной температуре в течение 20 мин. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови в полученных образцах проводили с использованием проточного цитометра GALAXY («Dako»). Для исследования применяли моноклональные антитела к антигенам Т-, В-лимфоцитов, природных киллеров, а также к антигену HLA-DR фирмы «Caltag Laboratories Inc» (США), меченные различными флуоресцентными метками: FITC, R-PE и TC (TRI-COLOR). Для контроля неспецифического связывания моноклональных антител использовали меченые изотопические иммуноглобулины, отличающиеся специфичностью («Caltag Laboratories Inc», США).

Количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови пациентов проводили стандартным методом радиальной иммунодиффузии в геле с использованием моноспецифических диагностических антисывороток к IgG (H+L), IgG (H), IgM (H), IgA (H) человека производства Нижегородского предприятия по изготовлению бактериальных препаратов (Россия).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием компьютерной программы «Statistica 6,0». Результаты вычисляли с помощью EOM Pentium-III 800.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ клинико-анамнестических характеристик больных не выявил достоверных различий между группами, что обусловлено рандомизированным подходом к формированию последних. Характеристики субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови до и после проведения курса послеоперационной ЛТ приведены в табл. 1.

Анализ приведенных данных показывает, что до начала лечения в обеих группах отмечали несколько уменьшенное количество CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. После проведенного лучевого послеоперационного лечения в контрольной группе изменение этих показателей Т-клеточного иммунитета не определяли.

В основной группе, где пациенткам на фоне ЛТ назначали ИТ, отмечали нормализацию вышеуказанных иммунологических параметров. Так, содержание CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов повысилось до 68,3 ( $p < 0,05$ ), CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов — 40,3 % ( $p < 0,05$ ). Также отмечено статистически достоверное изменение индекса CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ).

Анализ результатов определения процента клеток, экспрессирующих антиген HLA-DR, в исследуемых группах показал, что в основной группе не отмечали достоверного уменьшения данного показателя после проведения ЛТ, тогда как в контрольной группе зарегистрировано его достоверное снижение. Данное обстоятельство свидетельствует о позитивном влиянии примененного препарата на состояние антигенпрезентирующих клеток больных, которым проводили ЛТ, во время как в группе пациентов, которым не назначали иммунотерапию, определяли снижение экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости.

Анализ данных о содержании в крови иммуноглобулинов основных классов (табл. 2) показывает, что у пациенток обеих групп отмечали их исходную поликлональную гиперпродукцию.

Таблица 2  
Состояние гуморального звена иммунитета у пациенток исследуемых групп

Группа		Сывороточные иммуноглобулины, МЕ/мл		
		IgG	IgA	IgM
1-я	До лечения	173 ± 10,2	188 ± 13,7	195 ± 19,9
	После лечения	156 ± 9,7	161 ± 12,9	168 ± 14,1
2-я	До лечения	184 ± 8,2	183 ± 20,0	164 ± 13,1
	После лечения	199 ± 14,1	211 ± 36,7	159 ± 12,0
Норма		140–150	110–120	150–160

Данный феномен иллюстрирует один из компонентов так называемого escape — механизма «ускользания»), описанного многократно в отечественной и зарубежной литературе, характерного для больных со злокачественными новообразованиями, сохраняющегося и после оперативного вмешательства. После лечения отмечено снижение исходно повышенных уровней всех классов иммуноглобулинов в основной группе. В контрольной группе, наоборот, определен рост указанных показателей, за исключением уровня IgM, незначительно превышавшего норму до лечения, и снизившегося до нормальных показателей к окончанию ЛТ.

### ВЫВОДЫ

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что применение природного иммуно-

Таблица 1

Состояния клеточного звена иммунитета у пациенток исследуемых групп

Группа		Субпопуляции лимфоцитов крови, %						
		CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD20 <sup>+</sup>	HLA-DR <sup>+</sup>	CD16 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
1-я	До лечения	57,4 ± 2,5	32,7 ± 2,6	27,3 ± 2,0	9,3 ± 1,5	11,9 ± 1,3	16,9 ± 1,8	1,2 ± 0,1
	После лечения	68,3 ± 2,8*	40,3 ± 2,1*	23,7 ± 2,1	7,8 ± 1,2	10,5 ± 1,4	14,4 ± 1,4	1,7 ± 0,2*
2-я	До лечения	58,2 ± 2,7	33,5 ± 2,3	28,6 ± 1,9	10,8 ± 1,5	13,7 ± 2,2	17,8 ± 2,2	1,2 ± 0,1
	После лечения	60,3 ± 2,9	34,9 ± 2,7	24,2 ± 2,1	4,9 ± 1,1*	8,3 ± 1,4*	13,1 ± 2,3	1,4 ± 0,2
Норма		60–75	35–46	25–30	5–15	7–15	10–20	1,2–2,4

\* $p < 0,05$  в сравнении с соответствующими показателями до лечения.

дулятора, выделенного из клеток молочнокислых бактерий, на фоне послеоперационной ЛТ у больных раком шейки матки IV стадии обусловило улучшение иммунного статуса пациенток, что может изменить восприимчивость к инфекционным агентам и повысить качество жизни больных. Следует также отметить хорошую переносимость препарата больными.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бохман ЯВ. Руководство по онкогинекологии. СПб.: «ООО Из-во Фолиант», 2002. 542 с.
2. Гришина ТИ. Клиническое значение нарушений иммунитета при хирургических вмешательствах (обзор литературы). Андрол генитал хирургия 2000; (2): 14.
3. Запорожан ВН. Акушерство и гинекология. В двух книгах. К: Здоров'я, 2001. 820 с.
4. Клиническая онкогинекология. Руководство для врачей / Под ред ВП Козаченко / М: Медицина, 2005. 376 с.
5. Спіженко Ю, Мосієнко В, Мосієнко М та ін. Місце імуномодулювальної терапії в комплексному лікуванні пухлинної хвороби та інших захворювань. Ліки України 2005; (3): 80–5.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ IMMUNOMODULATING THERAPY IN COMBINED TREATMENT OF CERVICAL CANCER PATIENTS

S.G. Bugaytsov, A.I. Rybin

**Summary.** *The paper presents findings dealing with the clinical efficacy of an original domestic immunomodulator isolated from lactic-acid bacteria in a combined treatment of cervical cancer patients. This drug applied as part of post-surgery radiotherapy is shown to improve both humoral and cellular immunity. The drug is well tolerated by the patients and has no adverse effects.*

**Key Words:** cervical cancer, treatment, immunomodulation therapy.

#### Адрес для переписки:

Рыбак А.И.  
65055 Одесса, ул. Нежданова, 32  
областной онкологический диспансер,  
отделение онкогинекологии.