

*Е.Г. Кузьмина**Г.С. Неприна**О.Е. Ватин**Н.П. Сироткина**Н.М. Рогова**Л.И. Крикунова**Радиологический научный центр
РАМН, Обнинск, Россия*

КОРРЕКЦИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ У БОЛЬНЫХ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПОСЛЕ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Ключевые слова: рак шейки или тела матки, рак яичника, полихимиотерапия, ПОЛИДАН, иммунокоррекция.

Резюме. Успехи в лечении ряда злокачественных новообразований достигнуты благодаря применению облучения и интенсивных схем химиотерапии (ХТ). Однако оно является агрессивным и вызывает иммунную недостаточность у пациентов. Для уменьшения выраженности иммунодефицитного состояния и повышения противоопухолевой резистентности используют методы биотерапии для поддержания иммунитета больных онкологического профиля без стимуляции пролиферации опухолевого клона. У пациенток с онкогинекологическими заболеваниями в начале курса ХТ мы применяли ПОЛИДАН (Россия) в качестве препарата биотерапии. Это способствовало усилению гемопоэза и созревания нейтрофильных гранулоцитов; повышению содержания в периферической крови не только лейкоцитов, но и лимфоцитов (преимущественно CD4+); стимуляции ответа лимфоцитов на митоген (ФГА), что позволяет включить ПОЛИДАН в число биологических препаратов, способных усиливать иммунитет и противоопухолевую защиту.

ВВЕДЕНИЕ

При развитии злокачественных новообразований у больных часто обнаруживают нарушения иммунитета, затрагивающие, как правило, практически все звенья иммунной системы. Наиболее распространенные способы лечения — химиотерапия (ХТ), лучевая терапия (ЛТ), хирургическое лечение, помимо воздействия на опухоль, усиливают иммунный дисбаланс и снижают резистентность больных к инфекциям. Для устранения этого состояния (снижения степени выраженности иммунодефицита, повышения противоопухолевой и противoinфекционной резистентности) в настоящее время применяют различные методы биотерапии, в том числе используют препараты, влияющие на иммунную систему и поддерживающие адекватный иммунный статус больного без стимуляции пролиферации опухолевого клона.

В последнее время появились препараты, обладающие способностью стимулировать пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток при цитопении различного происхождения. Однако традиционные стимуляторы (такие, как нуклеинат натрия, пентоксил, прочие препараты аналогичного действия), как правило, слабо стимулируют гранулоцитопоез [3]. В то же время при использовании высокоэффективных современных гемостимуляторов (таких, как молграмостим, филграстим) могут возникать и побочные эффекты. В этой связи несомненный интерес представляет нуклеоспермат натрия (ПОЛИДАН, Россия), который разрешен для

широкого клинического применения и промышленного выпуска и зарегистрирован в Государственной Фармакопее РФ под номером 95/292/8. Препарат представляет собой смесь солей ДНК и РНК, получаемую из спермы осетровых рыб [2]. Экзогенная ДНК и РНК давно привлекают внимание в качестве лечебного средства [5]. Многие экзогенные препараты РНК и ДНК в значительном количестве накапливаются в костном мозге и усиливают кроветворение [4, 6]. ПОЛИДАН, как и другие препараты ДНК, активизирует и усиливает гемопоэз, обладает способностью стимулировать колониеобразование в депрессированном костном мозге, повышая индекс созревания нейтрофильных гранулоцитов, а также выход в циркуляцию лейкоцитов, моноцитов и лимфоцитов. Препарат используют для профилактики лейкопении [1, 2, 6]. Можно предположить, что при назначении ПОЛИДАНА может снижаться степень иммунодепрессии, развивающейся после ХТ и облучения. На основании изложенного считаем перспективным использование ПОЛИДАНА при лечении пациенток с онкогинекологическими заболеваниями для повышения активности иммунной системы и улучшения качества жизни больных.

Цель исследования — оценить возможности иммунокорректирующего влияния ПОЛИДАНА при использовании его в схемах лечения больных онкологического профиля со вторичным иммунодефицитным состоянием, индуцированным ЛТ и полихимиотерапией (ПХТ) [4].

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены больные с указанием в анамнезе (от 1 мес до 5 лет тому назад) на рак шейки матки (РШМ), рак тела матки (РТМ) или рак яичника (РЯ) и получающие комбинированную или сочетанную лучевую терапию (КЛТ или СЛТ).

На первом этапе КЛТ больным РШМ или РТМ проводили предоперационную внутриполостную ЛТ на аппаратах «Селектрон» или «Агат» по 11 Гр 1 раз в неделю до достижения СОД 22 Гр, после чего выполняли экстирпацию матки с придатками и далее по показаниям — дистанционную гамма-терапию (СОД 42–46 Гр). СЛТ состояла из двухосевой ротационной гамма-терапии первичного очага и зон регионарного метастазирования (СОД 16–20 Гр) с последующей внутриполостной ЛТ на аппарате «Селектрон» источниками ¹³⁷Cs разовой дозой 11,5 Гр на точку А 1 раз в неделю до достижения СОД 58,5 Гр и двухосевой 4-секторной ЛТ в СОД 20–25 Гр. Далее больным проводили от 1 до 8 курсов ПХТ: флуороурацил—цисплатин, доцетаксел, карбоплатин—блеомицин, метотрексат, цисплатин—доксорубицин—циклофосфамид. Схема лечения больных РЯ была аналогичной или (при распространенном процессе) включала только курсы ПХТ. Больные после перерыва в лечении поступали для проведения контрольного обследования и дальнейшей терапии. В основную группу (с применением ПОЛИДАНА) включены 18 пациенток с онкогинекологическими заболеваниями с местными, локорегионарными и отдаленными проявлениями заболевания (Т1–3 N0–1 M0–1). Контрольную группу составили 45 пациенток с аналогичными заболеваниями, которых ранее лечили в клинике МРНЦ РАМН по аналогичным схемам (без ПОЛИДАНА) — исторический контроль. Вторую контрольную группу составили 56 здоровых лиц (доноров). Возраст больных и доноров 40–60 лет.

В период исследования больные основной группы получали ПОЛИДАН на фоне очередного курса ПХТ. Препарат в дозе 75 мг вводили внутримышечно или подкожно 2 раза через день. Обследовали больных 3 раза: до назначения ПОЛИДАНА, через 5–7 дней и через 3–5 нед после введения ПОЛИДАНА на фоне ПХТ.

При проведении иммунологического анализа в периферической крови определяли количество циркулирующих лейкоцитов и лимфоцитов. В суспензии выделенных на градиенте плотности фиколл-верографина ($d = 1,077$) мононуклеарных клеток определяли содержание и функцию иммунокомпетентных клеток следующих классов: Т-, В-, NK-, нейтрофильных гранулоцитов. Использовали моноклональные антитела (МКАТ) фирмы «Becton Dickinson» и проточный цитофлуориметр «FACScan». Определяли общее содержание Т-клеток (CD3+), хелперов-индукторов (CD4+), супрессоров-киллеров (CD8+), В-клеток (CD19+), NK (CD16+56+). В качестве функциональных показателей оценивали фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов; реакцию бластной

трансформации Т-клеток, индуцированную ФГА (РБТЛ), число активированных Т-клеток (CD3+HLA-DR+); уровень сывороточных иммуноглобулинов (Ig) классов М, G, А, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК); цитотоксический индекс (ЦИ) НК-клеток. Все перечисленные функциональные показатели определяли с помощью общепринятых методов, используемых в клинической иммунологии.

Обработку результатов проводили методами вариационной статистики с применением методов нормирования и t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены исходные данные иммунологического обследования больных основной группы до начала применения ПОЛИДАНА, группы исторического контроля (после предшествовавшего комбинированного или комплексного лечения) и практически здоровых лиц. Установлено, что предшествовавшая агрессивная терапия обусловила лейкоцитопению и проявления иммунологической недостаточности: лимфоцитопению, достоверное уменьшение количества Т-(CD3+, CD4+, CD8+), В-(CD19+) и NK-(CD16+56+) клеток; снижение РБТЛ на ФГА (в группе исторического контроля статистически существенное, в основной группе — на уровне тенденции); тенденцию к снижению цитотоксической функции НК-клеток, активацию фагоцитоза (ФЧ) с одновременной тенденцией к понижению функционального резерва фагоцитирующих клеток (ФИ). Уровень IgM и ЦИК практически не изменился. Большинство средних показателей в ос-

Таблица 1
Исходные иммунологические показатели больных основной, контрольной групп и доноров

Показатель	Группа		
	основная	контрольная	доноры
Лейкоциты, абс. число (Г/л)	4,37 ± 0,52*	4,51 ± 0,17*	5,78 ± 0,25
Лимфоциты, абс. число	1,36 ± 0,16*	1,26 ± 0,07*	1,97 ± 0,12
Характеристика Т-популяции лимфоцитов			
CD3+, абс. число	0,81 ± 0,09*	0,77 ± 0,06*	1,46 ± 0,02
CD4+, абс. число	0,45 ± 0,06*	0,46 ± 0,04*	0,92 ± 0,03
CD8+, абс. число	0,28 ± 0,04	0,34 ± 0,03	0,57 ± 0,02
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,86 ± 0,26	1,65 ± 0,12	1,81 ± 0,11
CD3+HLADR+, абс. число	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
РБТЛ:			
спонт. вкл. метки (имп/мин)	750 ± 165	995 ± 96	676 ± 55
инд. ФГА вкл. метки (имп/мин)	15000 ± 3100	10500 ± 1700*	17850 ± 2500
индекс стимуляции	21,6 ± 6,5	13,5 ± 2,35	26,8 ± 4,23
Характеристика В-популяции лимфоцитов			
CD19+, абс. число	0,06 ± 0,01**	0,09 ± 0,01*	0,15 ± 0,01
IgM, г/л	1,80 ± 0,14	1,40 ± 0,18	1,58 ± 0,09
IgG, г/л	12,81 ± 0,48	12,01 ± 0,32	12,37 ± 0,35
IgA, г/л	1,95 ± 0,07	1,85 ± 0,06	1,94 ± 0,06
ЦИК, усл. ед.	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,004	0,10 ± 0,01
Характеристика популяции НК			
CD16+CD56+	0,21 ± 0,04*	0,24 ± 0,02*	0,32 ± 0,02
ЦИ, %	35,83 ± 3,04	34,38 ± 2,51	40,48 ± 1,99
Характеристика фагоцитов			
ФЧ	78,71 ± 2,12**	69,82 ± 1,78*	65,85 ± 0,76
ФИ	5,39 ± 0,39	5,73 ± 0,23	6,41 ± 0,70
Количество наблюдений	18	45	56

* $p < 0,05$ по сравнению с группой доноров;

** $p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями группы исторического контроля.

новной и контрольной группах были сопоставимы. В исходных показателях у больных основной группы можно отметить более высокое ФЧ, более сохраненный пролиферативный ответ Т-клеток на ФГА и более низкую численность в циркуляции В-клеток.

В табл. 2 представлены показатели состояния иммунной системы больных через 5–7 дней после применения ПОЛИДАНА на фоне курса ПХТ. Общим для основной и контрольной групп больных является усугубление иммунного дисбаланса после курса ХТ. Отмечается снижение (в каждой группе) уровня ряда показателей: уменьшение общего количества лимфоцитов, Т- (в т.ч. Т-хелперов/индукторов и Т-супрессоров/киллеров), В-, НК-клеток. Фагоцитоз оставался активированным. Действие ПОЛИДАНА, использованного на фоне ПХТ, проявилось сохранением исходного уровня лейкоцитов (за счет нейтрофильных гранулоцитов), меньшей степенью уменьшения численности CD4+ -клеток (по сравнению с исходным показателем $p > 0,05$ против $p < 0,05$ при сравнении показателей контрольной группы); повышением соотношения CD4+/CD8+ (ИРИ) и даже некоторым превышением ИРИ в группе доноров ($2,29 \pm 0,33$ против $1,81 \pm 0,11$); меньшим снижением РБТЛ на ФГА (индекс реакции в основной группе снизился на 12%, в контрольной — на 36%). Для оценки эффекта ПОЛИДАНА каждый результат в контрольной и основной группе был нормирован относительно исходного уровня путем деления значения каждого показателя, зарегистрированного у больной через 5–7 дней после лечения, на аналогичный исходный показатель. Затем были сопоставлены средние величины таких соотношений в основной и контрольной группах. Наиболее зна-

чимые эффекты ПОЛИДАНА представлены на рис. 1. Уже через 5–7 дней от начала применения препарата выявляется его способность увеличивать количество циркулирующих лейкоцитов, Т-клеток (за счет Т-хелперов/индукторов, что приводит к повышению ИРИ), а также усиливать ответ Т-клеток на митогенные стимулы, сниженный вследствие проведения ПХТ. Таким образом, ПОЛИДАН обладает протекторным действием и способствует более раннему началу восстановления иммунного статуса больных.

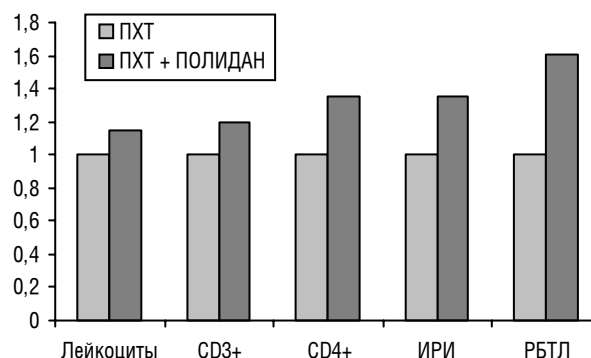


Рис. 1. Влияние ПОЛИДАНА на некоторые иммунологические показатели в ранние сроки после его применения на фоне ПХТ (по оси ординат — отношение исходного уровня каждого из показателей к уровню, зарегистрированному через 5–7 дней после применения ПОЛИДАНА)

В табл. 3 представлены показатели состояния иммунной системы пациенток основной и контрольной групп через 3–5 нед после проведения ПХТ с применением ПОЛИДАНА или без него. Как и в более ранний период (см. табл. 2), общим для боль-

Таблица 2
Иммунологические показатели больных основной и контрольной групп через 5–7 дней после применения ПОЛИДАНА на фоне ПХТ

Показатель	Группа	
	основная	контрольная
Лейкоциты, абс. число (Г/л)	4,71 ± 0,54	3,90 ± 0,11
Лимфоциты, абс. число	1,05 ± 0,11	0,85 ± 0,04
Характеристика Т-популяции лимфоцитов		
CD3+, абс. число	0,67 ± 0,09	0,53 ± 0,03
CD4+, абс. число	0,42 ± 0,05*	0,30 ± 0,02
CD8+, абс. число	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,01
ИРИ (CD4+/CD8+)	2,29 ± 0,33*	1,46 ± 0,09
CD3+HLADR+, абс. число	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01
РБТЛ:		
спонт. вкл. метки (имп/мин)	590 ± 70	683 ± 42
инд. ФГА вкл. метки (имп/мин)	12600 ± 3800*	5500 ± 1200
индекс стимуляции	19,2 ± 4,8*	8,7 ± 2,6
Характеристика В-популяции лимфоцитов		
CD19+, абс. число	0,05 ± 0,006	0,04 ± 0,003
IgM, г/л	1,79 ± 0,14	1,61 ± 0,06
IgG, г/л	12,91 ± 0,43	13,21 ± 0,26
IgA, г/л	1,96 ± 0,07	1,98 ± 0,04
ЦИК, усл. ед.	0,11 ± 0,004	0,11 ± 0,006
Характеристика популяции НК		
CD16+CD56+	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,01
ЦИ, %	38,8 ± 1,99	35,4 ± 1,73
Характеристика фагоцитов		
ФЧ	77,29 ± 2,01	67,65 ± 1,73
ФИ	5,38 ± 0,39	5,24 ± 0,17
Количество наблюдений	18	45

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 3
Иммунологические показатели больных основной и контрольной групп через 3–5 нед после применения ПОЛИДАНА на фоне ПХТ

Показатель	Группа	
	основная	контрольная
Лейкоциты, абс. число (Г/л)	3,80 ± 0,41	4,20 ± 0,26
Лимфоциты, абс. число	1,30 ± 0,17	1,08 ± 0,05
Характеристика Т-популяции лимфоцитов		
CD3+, абс. число	0,83 ± 0,12*	0,63 ± 0,05
CD4+, абс. число	0,49 ± 0,06*	0,37 ± 0,03
CD8+, абс. число	0,28 ± 0,04	0,29 ± 0,02
ИРИ (CD4+/CD 8+)	2,12 ± 0,10*	1,38 ± 0,12
CD3+HLADR+, абс. число	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
РБТЛ:		
спонт. вкл. метки (имп/мин)	720 ± 210	900 ± 106
инд. ФГА вкл. метки (имп/мин)	15000 ± 3300	10800 ± 1500
индекс стимуляции	19,8 ± 4,7	14,4 ± 2,2
Характеристика В-популяции лимфоцитов		
CD19+, абс. число	0,05 ± 0,006	0,08 ± 0,01
IgM, г/л	1,55 ± 0,17	1,53 ± 0,06
IgG, г/л	12,78 ± 0,31	12,85 ± 0,26
IgA, г/л	1,89 ± 0,07	1,88 ± 0,04
ЦИК, усл. ед.	0,11 ± 0,004	0,11 ± 0,006
Характеристика популяции НК		
CD16+CD56+	0,18 ± 0,03	0,20 ± 0,02
ЦИ, %	39,61 ± 2,05	38,05 ± 2,28
Характеристика фагоцитов		
ФЧ	75,69 ± 2,21	70,44 ± 1,93
ФИ	5,53 ± 0,55	5,54 ± 0,21
Количество наблюдений	17	45

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями контрольной группы.

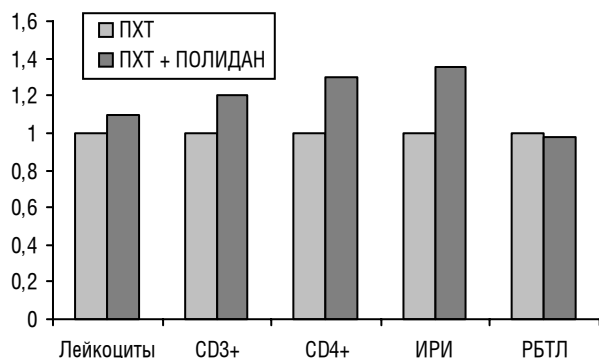


Рис. 2. Влияние ПОЛИДАНА на некоторые иммунологические показатели через 3–5 нед после его применения на фоне ПХТ (по оси ординат — отношение исходного уровня каждого показателя к зарегистрированному через 3–5 нед после лечения)

ных обеих групп является неполное (по сравнению с данными у здоровых лиц) восстановление показателей иммунологического исследования. Остается уменьшенным количество лейкоцитов, лимфоцитов, Т- (CD3+, CD4+, CD8+), В-, НК-клеток; активирован фагоцитоз. Так же, как и в предыдущем сроке исследования, сравнивали индивидуальные показатели пациенток контрольной и основной групп с их исходным уровнем, а затем определяли среднее соотношение для каждой группы. Наиболее значимые эффекты ПОЛИДАНА — сохранение более высоких темпов восстановления количества Т-хелперов/индукторов и оптимального соотношения иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов — представлены на рис. 2. Другие иммуномодулирующие эффекты ПОЛИДАНА спустя 3–5 нед после завершения лечения нивелируются.

ВЫВОДЫ

Изучено состояние иммунитета у 18 пациенток с онкогинекологическими заболеваниями (через 1 мес — 5 лет после проведения КЛТ или СЛТ) перед проведением очередного курса поддерживающей ПХТ и выявлены признаки обусловленной предшествовавшей агрессивной терапией иммунной недостаточности.

Применение ПОЛИДАНА на фоне курса поддерживающей ПХТ способствовало более раннему началу восстановления показателей иммунологических исследований (повышение в циркуляции уровня нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов, преимущественно относящихся к Т-ряду; повышение соотношения CD4+/CD8+; сохранение более высокой функциональной активности Т-клеток).

Проявление иммунокорригирующего действия ПОЛИДАНА отмечено через 5–7 дней после его применения; эффект в отношении Т-хелперов/индукторов сохранялся и через 3–5 нед после лечения.

Полученные результаты позволяют считать целесообразным включение ПОЛИДАНА в схему ле-

чения пациенток с онкогинекологическими заболеваниями при проведении ПХТ в качестве препарата, повышающего иммунитет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобров МЯ, Сосновская ИЮ, Умникова НИ. Полидан в профилактике лейкопении при проведении химиотерапии у больных злокачественными новообразованиями В: Материалы VII Рос. нац. конгресса «Человек и лекарство» Москва, 2000: 256.
2. Бычков МБ, Бодягин ДА, Борисов ВИ и др. Полидан — новый стимулятор лейкопоза у онкологических больных. Клин вестник 1997; (1): 85–6.
3. Лекарственные средства (ч 1) Под ред. М.Д. Машковского. М.: ТОО Медицина, 1992: 138, 139, 141, 172.
4. Пашук ЛК, Апрышко ГН, Трещалина ЕМ. Препараты ДНК как потенциальные терапевтические средства. Хим-фармацевт журн 1995; 29 (6): 61–4.
5. Соболева ЭП, Рогачева СА. Применение ДНК при цитопении, вызванной миелосаном. Бюл эксперим биологии и медицины 1976; LXXXI (4): 409–11.
6. Трещалина Е, Бычков М, Бодягин Д. Полидан — новый стимулятор кроветворения. Врач, 1996; 2 (6) 26–7.

CORRECTION OF SECONDARY IMMUNE-DEFICIENT STATES CAUSED BY CHEMORADIOTHERAPY IN ONCOLOGIC PATIENTS

E.G. Kuzmina, G.S. Neprina, O.E. Vatin, N.P. Sirotkina, N.M. Rogova, L.I. Krikunova

Summary. *Successes in the treatment of a number of malignant tumors are achieved due to the application of radiation and intensive schedules of chemotherapy (CT). This treatment, however, is aggressive and causes immunologic deficiencies in patients. In order to reduce the immune deficiency and increase the anti-tumor resistance, biotherapeutic methods are applied that support the patient's immunity at an appropriate level without stimulation of the tumor clone's proliferation. As an agent for biotherapy, POLYDAN (Russia) was applied at early CT stages in gynecological oncological patients. This agent enhances hemopoiesis and maturation of neutrophilic leukocytes; increases the contents in the peripheral blood of not only leukocytes but also lymphocytes (mainly CD4+); and stimulates lymphocytes' response to mitogen (PHA). These effects allow reckoning POLYDAN as a biologic agent able to enhance the immunity and anti-tumor protection.*

Key Words: carcinoma of uterine cervix, hysterocarcinoma, ovarian carcinoma, polychemotherapy, POLYDAN, immunocorrection.

Адрес для переписки:

Кузьмина Е.Г.
Россия, 249020, Калужская обл.,
г. Обнинск, ул. Королева, 4
Радиологический научный центр РАМН