

© В.Б. Кузин, А.Б. Петров
УДК 618.19-006:615.28
Поступила 21.05.2004

В.Б. Кузин, А.Б. Петров

*Нижегородская государственная медицинская академия; Онкологический диспансер,
Нижний Новгород*

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ДЕРИНАТА ПРИ АДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

При сравнении результатов исследования ряда иммунологических показателей у больных раком молочной железы в ходе проведения адьювантной полихимиотерапии с больными, которым параллельно назначался деринат, было установлено, что применение дерината позволяет повысить активность иммунной системы, отвечающей за противоопухолевую резистентность.

It has been established at a comparison of the immunologic value series investigation results in patients with a mammary gland cancer during an adjuvant polychemotherapy of patients who were parallelly prescribed a derinate that a use of derinate permits to increase the immune system activity, responsible for an antitumoral resistance.

В последние годы, по данным ВОЗ, наблюдается рост заболеваемости раком молочной железы (РМЖ). Число случаев РМЖ увеличивается в каждой стране ежегодно на 1—2%. В структуре онкологических заболеваний РМЖ у женщин занимает первое место. Так, если в Нижнем Новгороде в 1984 г. заболеваемость РМЖ составляла 21,3 на 100000 населения, то в 2000 г. - 43,6 на 100000 населения [1]. В структуре смертности от онкологических заболеваний у женщин РМЖ занимает первое место. Основными методами лечения РМЖ в настоящее время традиционно остаются: хирургический, лучевая терапия, химиотерапия, гормонотерапия. Множественные курсы адьювантной полихимиотерапии могут быть более эффективными, если интервалы между ними будут более короткими. Это связано с «дозовой плотностью» препаратов, при которой в каждом цикле химиотерапии уничтожается определенное количество чувствительных к препарату опухолевых клеток [2].

Вместе с тем, обладая общетоксическим действием, цитостатики оказывают отрицательное влияние на все клетки, обладающие высокой пролиферативной способностью, что часто является причиной, не позволяющей в полном объеме провести курс полихимиотерапии [3]. В связи с этим весьма актуальным является поиск путей преодоления побочного действия противоопухолевых агентов.

Цель исследования — изучить влияние сочетанного применения циклофосфана, доксорубицина, фторурацила с деринатом на иммунную систему организма.

Материалы и методы. В исследование было включено 60 больных РМЖ T1–3N1–2M0 стадии, проходившие лечение на базе онкологического диспансера Нижнего Новгорода. После проведения предоперационной лучевой терапии в дозе 35—40 Гр выполнялась радикальная мастэктомия, после чего все больные получали адьювантные курсы полихимиотерапии по схеме CAF (циклофосфан 500 мг/м², доксорубицин 50 мг/м², фторурацил 500 мг/м²). Всем больным проведено по 4 курса полихимиотерапии с промежутком между курсами — 21 день.

Больные были рандомизированы (разделены случайным путем) на 2 группы: референтная (30 человек) и основная (30 человек), где применялся препарат деринат в дозе 5 мл 1,5% раствора, внутримышечно, через день (5 инъекций на курс) за сутки до начала первого, третьего и четвертого курсов.

До начала полихимиотерапии, перед третьим и после четвертого курсов (что соответствовало 1, 42 и 63-м суткам), всем больным проводилось исследование иммунного статуса, включающего определение субпопуляций Т-лимфоцитов. Также определялась концентрация цитокинов ИЛ-1, ИЛ-4 и ФНО α s.

Определение CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD25+, CD95+ лимфоцитов проводилось с помощью набора моноклональных антител производства Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии на люминисцентном микроскопе «Leitz» (Германия). Концентрация цитокинов ИЛ-1, ИЛ-4 и ФНО α s определялась иммуноферментным методом с использованием

тест-систем ф. «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург).

Полученные данные были обработаны на IBM PC/AT с помощью пакетов прикладных программ Statistika 6.0 (для Windows-95) и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Результаты представлялись в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — стандартное отклонение. Достоверность различий средних показателей определяли по t-критерию Стьюдента. Две выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В нашей работе у больных РМЖ после адъювантной химиотерапии число зрелых Т-лимфоцитов (CD3) увеличивалось перед третьим (42-е сутки) и четвертым (63-и сутки) курсами на 14 и 11% соответственно. В основной группе их относительное содержание оставалось неизменным на протяжении двух курсов химиотерапии, снижалось перед третьим и четвертым курсами на 19 и 20% соответственно (см. таблицу).

Показатели субпопуляций Т-лимфоцитов при сочетанном применении дерината и адъювантной полихимиотерапии в сравнении с контролем ($M \pm m$)

Сроки	Группы	Субпопуляции Т-лимфоцитов					
		CD3	CD4	CD8	CD16	CD25	CD95
1-е сутки	Референтная	27,4±9,6	28,8±11,02	28,7±12,4	26,2±12,9	26,3±9,9	28,3±9,9
	Основная	37,6±14,1	32,2±13,2	25,2±10,2	24,5±10,02	27,08±0,3	25,6±15,0
42-е сутки	Референтная	31,3±15,2	26,7±0,72	29,8±12,05	18,7±2,6*	25,7±13,6	26,0±11,0
	Основная	30,0±12,3	31,8±13,9	21,6±11,4	26,01±2,7*	26,3±3,55	21,7±13,0
63-и сутки	Референтная	30,0±18,2	37,0±16,2	32,0±10,3	18,5±2,01*	18,6±7,8*	18,1±8,1
	Основная	29,9±9,08	28,9±12,7	29,9±10,6	29,6±3,42*	26,05±2,93	27,3±10,0

* — $p < 0,05$ относительно референтной группы; ** — $p < 0,05$ относительно исходных значений до полихимиотерапии.

В референтной и основной группах изменение содержания CD4 субпопуляции Т-лимфоцитов носило индивидуальный характер. Так, при проведении только полихимиотерапии относительная численность CD4 лимфоцитов снижалась на 42-е сутки наблюдения на 8%, возрастала к 63-м суткам на 28% по сравнению с исходными показателями. В то же время содержание CD4 лимфоцитов у больных, получавших деринат, постепенно снижалось и к концу срока исследования было на 11% ниже исходного.

Система CD8 лимфоцитов у больных, получавших только цитостатическую терапию, имела тенденцию к увеличению в процессе лечения. Так, перед третьим и четвертым курсами полихимиотерапии (42-е, 63-и сутки) относительная численность CD8 лимфоцитов возрастала на 3,8 и 11,5% соответственно. В то же время у больных, получавших деринат в соответствующие сроки, эти показатели изменялись неоднозначно, они были на 15% ниже на 42-е сутки, а на 63-и сутки на 18,6% выше исходного уровня.

Таким образом, по результатам исследования, мы имеем более высокие показатели относительной численности CD3, CD4 лимфоцитов у больных референтной группы. Изучение параметров, характеризующих функциональную активность иммунной системы, показало, что назначение дерината значительно увеличивало продукцию интерлейкинов. Так, в основной группе содержание ИЛ-4 увеличилось перед третьим и четвертым курсами полихимиотерапии в 2,1 и 3 раза соответственно, в то время как в референтной группе ($p < 0,01$) этот показатель возрастал в указанные сроки всего лишь в 2,1 и 2,3 раза соответственно ($p < 0,01$).

На более высокую способность Т-системы иммунитета больных РМЖ, получавших деринат, отвечать на внешние активирующие сигналы указывают и данные изменения ИЛ-1. ИЛ-1 обладает широким спектром иммунологической и неиммунологической активности, усиливает синтез ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10 и ИЛ-12, приводя к повышению пролиферации различных видов иммунокомпетентных клеток [4—6]. В наших исследованиях назначение дерината сопровождалось повышением содержания ИЛ-1 у больных данной группы перед третьим и четвертым курсами химиотерапии на 30 и 60% соответственно ($p < 0,05$), что коррелировало со значительным увеличением показателя ИЛ-4. В группе сравнения содержание ИЛ-1 в процессе химиотерапии снизилось на 42-е сутки на 65%, а на 63-и — на 88%. Следующим цитокином являлся фактор некроза опухолей (ФНО).

Назначение химиотерапии в наших исследованиях сопровождалось снижением продукции ФНО в обеих группах. Однако в группе, где применялись цитостатики, это снижение было прогрессирующим: на 42-е сутки на 14% ниже исходного, а к концу наблюдения — на 79%. Применение дерината изменило характер течения данного процесса. Максимальное снижение продукции ФНО наблюдалось на 42-е сутки (на 33% ниже исходного), к концу срока наблюдения этот показатель был ниже исходного уровня всего на 15%.

В наших исследованиях адьювантная полихимиотерапия приводила к снижению по сравнению с исходным уровнем экспрессии рецепторов для ИЛ-2 (CD25). Однако данный процесс менее выражен в группе больных, которым вводился деринат. Так, в конце срока наблюдения экспрессия CD25 антигена в группе сравнения была ниже исходного уровня на 29%, в основной же группе данный показатель снижался на 4%, это свидетельствует о более высокой функциональной активности Т-лимфоцитов в группе больных, получавших деринат.

Важная роль в противоопухолевой защите организма отводится так называемым натуральным киллерам (НК-клетки). CD16 рецептору отводится главенствующая роль в пусковом механизме киллинга НК-клеток, а также секреции цитокинов.

У больных основной группы содержание НК-клеток перед третьим курсом увеличивалось на 6%, а перед четвертым курсом химиотерапии — на 21%. В группе сравнения этот показатель имел тенденцию к постепенному снижению, перед третьим курсом (42-е сутки) он был ниже исходного на 29%, перед четвертым (63-и сутки) на 30%. Следовательно, применение дерината позволяет не только сохранить фон количества НК-клеток, но даже несколько его повысить, что является важным прогностически благоприятным параметром иммунологического мониторинга у онкологических больных

[7—9].

Экспрессия CD95 антигена свидетельствует о готовности клетки к программированной смерти. Поскольку в результате проводимой химиотерапии повреждаются все клетки, обладающие высокой пролиферативной способностью, то увеличение экспрессии CD95 антигена в сопоставлении с активностью иммунной системы может свидетельствовать о способности лейкоцитов периферической крови к более быстрой регенерации. В наших исследованиях содержание CD95 антигена было значительно снижено при проведении адъювантной полихимиотерапии (на 9% на 42-е сутки и на 36% на 63-и сутки по сравнению с исходным). В то же время в основной группе больных этот показатель снижался не так значительно и был даже выше исходного к концу наблюдаемого срока. Данные результаты коррелировали с более выраженной активностью иммунной системы. Следовательно, можно предположить, что деринат способствует активации процессов апоптоза, т.е. гибели поврежденных клеток, одновременно усиливая процессы восстановления нормальных, неповрежденных цитостатической терапией клеток иммунной системы.

Заключение. Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что деринат в условиях проведения адъювантной полихимиотерапии оказывает органопротекторное и иммуномодулирующее действие, способствуя элиминации поврежденных химиотерапией клеток иммунной системы и повышая функциональную активность ее сохранившихся элементов. Применение дерината позволяет повысить активность той части системы иммунитета, которой отводится важная роль в течении опухолевого процесса и с которой связан благоприятный прогноз. Это численность НК, уровень экспрессии CD95, CD25 антигена, уровень секреции ИЛ-1, ИЛ-4, ФНО, функциональная активность гранулоцитов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Иванов В.Г. Эпидемиологические факторы риска, ранняя диагностика рака молочной железы. Практическая онкология 2002; 3(1): 1—5.
2. Гарин А.М. Адъювантная и неадъювантная терапия. В кн.: Противоопухолевая терапия. Под ред. Н.И. Переводчикова. М; 1996; 176—185.
3. Переводчикова Н.И. Противоопухолевая терапия. Справочник. М; 1996; 223 с.
4. Симбирцев А.С. Биология семейства интер лейки на-1 человека. Иммунология 1998; 3: 9—17.
5. Фрейдлин И. С. Цитокины и межклеточные контакты в противоинойфекционной защите организма. Соросовский образовательный журнал 1996; 7: 19-25.
6. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. СПб: Гиппократ; 1992; 256 с.
7. Baum D.M., Krishnaral R. Natural killer in host defense. Immunol and Allergy North America 1994; 13(3): 535-550.
8. Djeu J.Y. Natural killer cells. Role in resistance to cancer and infection. J Florida M A 1991; 78(11): 763-765.
9. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. Киев: Наукова думка; 1998; 317 с.