

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В СХЕМУ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ БЕТАЛЕЙКИНА

Стахеева М.Н., Слонимская Е.М., Бабьшкина Н.Н.,
Чердынцева Н.В., Симбирцев А.С. *, Кладиев А.А. **

ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск;

*НИИ ОЧБ, Санкт-Петербург;

** «Союзагромед», Москва, Россия

Резюме. В работе проведена оценка влияния беталейкина на показатели иммунной системы у больных раком молочной железы (РМЖ), получавших комбинированное противоопухолевое лечение. Показано, что применение беталейкина непосредственно перед проведением курса предоперационной терапии оказало защитное влияние на количественные и функциональные показатели иммунокомпетентных клеток крови у пациенток с распространенностью процесса N0-1. У больных РМЖ с обширным регионарным метастазированием N2 протекторное действие препарата выявлено только в отношении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. Показана зависимость защитного эффекта беталейкина от исходного адаптационного статуса пациенток, с одной стороны, и способность препарата оказывать адаптогенное действие, с другой.

Ключевые слова: беталейкин, иммунитет, рак молочной железы.

Staheeva M., Slonimskaya E., Babyshkina N., Cherdyntseva N., Simbirtsev A., Kladiev A.

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN BREAST CANCER PATIENTS UNDER BETALEUKIN ADJUVANT TREATMENT

Abstract. We have examined the effect of betaleukin on the immune parameters in breast cancer (BC) patients treated with cytostatic drug and surgery. Intravenous application of betaleukin for 5 days just before adjuvant chemotherapy have been shown to prevent both the decrease of blood immune cell count and the damage of their functional activity in BC patients with lymph node involvement N0-1. BC patients with wide spreading lymph node metastases N2 showed the protection of blood neutrophil activity but not lymphocyte subset count following betaleukin administration and chemotherapy. Positive effect of betaleukin was found to depend upon the adaptive state of patients. Betaleukin in turn appeared to display the adaptogenic activity. (*Med. Immunol., 2005, vol.7, № 1, pp 63-72*)

Введение

При развитии любого заболевания, в том числе злокачественного новообразования, существенную роль играет снижение общей неспецифической резистентности организма как одного из механизмов адаптации [6, 12]. Анализ причин гибели онкологиче-

ских больных свидетельствует о том, что генерализация процесса сопровождается выраженными нарушениями в основных регуляторных системах [28]. Несмотря на важность и необходимость применения современных методов противоопухолевого лечения, агрессивность этих воздействий может усиливать дисрегуляцию гомеостаза и снижать адаптационные возможности организма. Негативное влияние химиотерапии, облучения на факторы, обеспечивающие устойчивость организма к развитию злокачественных новообразований, может приводить не только к развитию осложнений, которые не-

Адрес для переписки:

Стахеевой Марине Николаевне,
634034, г.Томск, ул.Студенческая, д. 5/А, кв. 4,
Тел.: (3822) 56-15-40, (3822) 41-80-79.
Факс (3822)51-40-97. E-mail: oncology@info.tsu.ru

редко становятся показанием для прекращения лечения, но и к рецидивам заболевания. В литературе имеются данные о том, что и хирургическое удаление опухолевого очага может способствовать процессу метастазирования за счет повышения числа циркулирующих опухолевых клеток в крови и лимфе при операции, а также со стрессорным воздействием операционной травмы [1, 10, 16]. Вышесказанное делает актуальным поиск средств и методов поддержания адекватного уровня общей неспецифической резистентности организма больных злокачественными новообразованиями, восстановления нарушенных взаимосвязей между основными системами гомеостаза с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения и исхода заболевания.

Интенсивно изучаемая в последние годы цитокиновая система представляет собой перспективный объект для поиска агентов регуляции гомеостаза. Цитокины регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток. В рамках иммунной системы они реализуют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом. На уровне целого организма цитокины осуществляют коммуникации между иммунной, нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных реакций [22].

Одну из ключевых позиций в цитокиновой сети - цельной системе взаимодействующих элементов - занимает интерлейкин-1 β (IL-1 β) [11]. В настоящее время медицинские препараты, созданные на основе IL-1 β человека, используются в терапии больных со вторичными иммунодефицитами, инфекционными заболеваниями, локальными гнойно-воспалительными процессами, травматическими и другими поражениями кожи и слизистых, лейкопениями различной этиологии [18, 21]. В онкологической практике, созданный на основе рекомбинантного IL-1 β , препарат беталейкин нашел свое применение как средство для профилактики и коррекции токсической лейкопении при химиотерапии [7, 8, 14]. В основе этого терапевтического эффекта IL-1 β лежит его способность стимулировать пролиферацию и восстановление ранних клеток-предшественников миелоидного ряда после повреждения различного генеза [27].

Однако такие биологические свойства IL-1 β , как антипролиферативная активность в отношении клеток ряда опухолевых линий, способность вызывать геморрагический некроз и ингибировать ангиогенез в опухоли, индукция вторичных цитокинов, обладающих прямым противоопухолевым действием, модуляция функциональной активности иммуокомпетентных клеток, заставляют шире взглянуть на возможности использования IL-1 β в онкологической практике [4, 5, 29]. Особого внимания заслуживает межсистемная регуляторная активность IL-1 β , его

влияние на систему гипоталамус-гипофиз-надпочечники [11], которая, в свою очередь, в значительной мере определяет уровень общей неспецифической резистентности организма [9]. Восстановление адекватного уровня реактивности у больного раком может изменить не только переносимость, но и чувствительность к противоопухолевому лечению и, следовательно, оказать влияние на исход заболевания. Поскольку иммунологический гомеостаз является важным фактором, характеризующим общий статус и адаптационные возможности организма больных злокачественными новообразованиями, то представилось актуальным изучить влияние препарата беталейкина, созданного на основе рекомбинантного IL-1 β , на состояние системы иммунитета у больных раком молочной железы (РМЖ) в динамике на этапах проведения противоопухолевого лечения и оценить его влияние на исход заболевания.

Материалы и методы

Характеристика обследованных больных

В исследование были включены 42 больных раком молочной железы T₁₋₄N₀₋₂M₀. У всех пациенток диагноз верифицирован морфологически.

Противоопухолевое лечение состояло из проведения 2-3 курсов неoadъювантной химиотерапии (НХТ) по схеме CMF (циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил) стандартными дозами с последующим радикальным хирургическим вмешательством в объеме радикальной мастэктомии или радикальной резекции, 4-5 курсов адъювантной химиотерапии (АХТ) по схеме CMF и лучевой терапии по показаниям.

Было сформировано 2 группы больных. В основную группу вошли 22 пациентки с РМЖ, которые перед проведением НХТ получали беталейкин. В контрольную группу включены 20 больных РМЖ без терапии беталейкином. Группы больных, вошедших в исследование, по возрасту, состоянию репродуктивной функции, размеру первичного опухолевого узла были репрезентативны. Однако была выявлена неоднородность сравниваемых групп по степени регионарной распространенности опухолевого процесса. Так, в группе контроля пациенток с обширным регионарным метастазированием (N₂) оказалось только 2, в то время как в основной - 9 больных с метастатическим поражением 4 и более аксилярных лимфатических узлов ($\chi^2=2,86$, $p=0,87$). Поскольку этот параметр является одним из наиболее значимых факторов прогноза для рака молочной железы [20], то при исследовании иммунологических механизмов действия беталейкина и оценки его роли в противоопухолевом лечении анализ полученных данных проведен в подгруппах с признаком N₀₋₁ и N₂.

Отдаленные результаты лечения оценивались по частоте и срокам: возникновения рецидивов, метастазов опухоли и летальных исходов.

Методика применения беталейкина

Препарат рекомбинантного IL-1 β беталейкин, созданный в НИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург), вводили до начала предоперационной химиотерапии. Курс лечения состоял из 5 ежедневных капельных внутривенных инфузий в дозе 5 нг/кг массы тела пациента на 500 мл изотонического раствора натрия хлорида. Продолжительность инфузии варьировала от 60 до 180 мин.

Оценка иммунного статуса

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови определяли методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител к дифференцировочным и активационным антигенам лимфоцитов («Медбиоспектр», Москва) [23]. Пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови оценивали по включению ³H-тимидина в ДНК клеток в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) по методу В.В.Хоробрых и соавт. (1983). Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК) определяли в мембранотоксическом тесте [19]. Функциональную активность нейтрофилов исследовали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по их способности генерировать активные формы кислорода (АФК). Принцип метода заключается в том, что нитросиний тетразолий восстанавливается под действием АФК в гранулы диформаза темного-синего цвета, которые локализуются в цитоплазме или на мембране нейтрофила. Оценивали спонтанную (в кровотоке) и стимулированную (при добавлении *in vitro* опсонизированного зимоzana) продукцию АФК по проценту активных (формазаположительных) нейтрофилов и интенсивности реакции, о которой судили по показателям среднего цитохимического коэффициента. Фагоцитарный резерв, отражающий способность нейтрофилов к завершённому фагоцитозу, подсчитывали как разницу между показателями в стимулированном и спонтанном вариантах реакции [15].

Прочие показатели иммунного статуса (содержание основных классов иммуноглобулинов, циркулирующие иммунные комплексы, активность системы комплемента в сыворотке крови больных) оценивали стандартными методами в соответствии с методическими рекомендациями [17].

Оценку иммунного статуса проводили до начала лечения, после окончания курса биотерапии беталейкином и после завершения предоперационной полихимиотерапии.

Оценка адаптационного статуса

Типы адаптационных реакций определяли по процентному содержанию лимфоцитов в лейкоцитарной формуле и по их отношению к процентному содержанию сегментоядерных нейтрофилов [6]. Реакции тренировки, спокойной и повышенной активации относили к благоприятным типам адаптации, а переактивации, острого и хронического стресса - к неблагоприятным.

Статистическая обработка материала

Результаты обрабатывали с применением методов общей вариационной статистики. Значимость различий средних в сравниваемых группах оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента, сравнение показателей в динамике осуществляли при помощи непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых переменных. Статистическую значимость различий частот встречаемости признака определяли с применением критерия χ^2 .

Результаты

Исследование адаптационного статуса у больных РМЖ до начала противоопухолевого лечения показало, что процент пациенток с благоприятными типами адаптационных реакций – тренировки, спокойной и повышенной активации, характеризующихся наличием функциональных и пластических ресурсов организма, был одинаков в контроле и в группе больных, получивших беталейкин, составляя 80% и 74%, соответственно. Адаптационные реакции переактивации и стресса, соответствующие состоянию напряжения систем гомеостаза и истощения функциональных резервов, были представлены в 20% и 26% случаев, соответственно. Проведение НХТ у 30% пациенток контрольной группы приводило к смене исходного благоприятного типа адаптационной реакции на неблагоприятный – стресс и переактивацию. Включение в схему лечения беталейкина не только не ухудшило исходный адаптационный статус, но в 8% наблюдений способствовало переходу неблагоприятного типа в благоприятный: по окончании курса цитостатического лечения доля реакций переактивации и стресса у пациенток, получавших беталейкин, составила 18% по сравнению с 50% в контрольной группе ($\chi^2=11,40$, $p<0,01$).

Динамика показателей системы иммунитета при проведении противоопухолевого лечения у больных РМЖ оказалась зависимой от типа исходной адаптационной реакции. По окончании НХТ у больных РМЖ с исходным благоприятным типом адаптационной реакции применение беталейкина привело к достоверным отличиям ряда показателей по сравнению со значениями в группе контроля (табл. 1). При исходной реакции стресса и переактивации иммуно-

логические показатели у пациенток как основной, так и контрольной групп не имели статистически значимых различий на этапах противоопухолевого лечения.

Анализ иммунного статуса у пациенток с РМЖ в зависимости от степени регионарного метастазирования показал, что до начала противоопухолевого лечения у больных с более распространенным процессом (N_2) в периферической крови было достоверно выше число CD25+ и CD95+ лимфоцитов (табл. 2, 3). В этой же группе больных в ответ на применение беталейкина отмечено статистически значимое снижение абсолютного количества лимфоцитов, процента моноцитов в формуле крови, абсолютного числа CD25+ лимфоцитов, а также увеличение содержания IgA в сыворотке крови относительно исходных значений (табл. 3).

Иммунный статус у больных РМЖ с N_{0-1} оказался более стабилен. В этой группе пациенток реакция со стороны иммунной системы на проводимое лечение проявилась лишь увеличением абсолютного и относительного числа CD95+ лимфоцитов (табл. 2). При этом отмечены достоверные различия в абсолютном и процентном содержании CD95+ лимфоцитов у больных с N_{0-1} и N_2 (табл. 2, 3).

Влияние предоперационной химиотерапии на систему иммунитета у больных РМЖ контрольной группы с распространенностью опухолевого процесса N_{0-1} выразилось в снижении целого ряда показателей, представленных в таблице 4. Поскольку в этой группе было всего 2 пациентки с обширным поражением лимфатических узлов (N_2), мы сочли некорректным представлять данные их иммунологического обследования в сравнительном аспекте.

Применение беталейкина у больных РМЖ с N_{0-1} позволило уменьшить угнетающее влияние цитостатического лечения на клетки белого ростка системы кроветворения: сниженным относительно исходных значений оказалось только общее число лейкоцитов, абсолютное количество CD3+ и CD4+ лимфоцитов и иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+ (табл. 2). Кроме того, НХТ на фоне беталейкина у этих пациенток сопровождалась более высоким уровнем интенсивности реакции нейтрофильных

фагоцитов на стимул в НСТ-тесте и спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов по сравнению с показателями у больных контрольной группы (табл. 2, 4).

Включение беталейкина в схему противоопухолевого лечения у пациенток с N_2 не оказало какого-либо протекторного влияния, описанного для больных с признаком N_{0-1} ; по окончании НХТ было выявлено снижение практически всех абсолютных показателей определяемых субпопуляций лимфоцитов относительно исходных значений за исключением CD95+ лимфоцитов (табл. 3). Однако применение беталейкина способствовало тому, что функциональная активность системы нейтрофильных фагоцитов после проведения полихимиотерапии сохраняла уровень значений, наблюдаемых до начала лечебных мероприятий (табл. 3).

Анализ отдаленных результатов лечения показал, что за 3-летний период наблюдения у больных РМЖ с N_{0-1} , получавших беталейкин, признаков прогрессирования заболевания выявлено не было. Среди пациенток с N_2 у 2-х больных наблюдалось метастатическое поражение костей скелета в течение первого года наблюдения ($\chi^2=2,39$, $p=0,13$). Интересным оказался тот факт, что иммунный статус у больных РМЖ с N_2 без прогрессирования заболевания в ответ на проводимое лечение ответил изменением практически всех исследуемых параметров, за исключением индекса стимуляции пролиферации лимфоцитов ФГА. Для больных с неблагоприятным исходом отмечена обратная зависимость: после применения беталейкина без статистически значимой динамики остался 21 показатель, а по окончании полихимиотерапии 10 из 34 параметров по сравнению с исходными значениями.

Обсуждение

Исследованиями Н.В.Лазарева, проведенными в 60-е годы, было показано, что, изменяя общий уровень деятельности защитных систем организма, влияя фармакологическим путем на «предсуществующие в организме комплексные защитные реакции и механизмы», можно вызвать состояние неспеци-

Табл. 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ РМЖ С ИСХОДНЫМ БЛАГОПРИЯТНЫМ ТИПОМ АДАПТАЦИОННОЙ РЕАКЦИИ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ НХТ

Показатель	Контроль	Беталейкин
Абсолютное количество лимфоцитов ($10^9/л$)	0,71±0,12	1,07±0,15
Фагоцитарный резерв нейтрофилов (%)	21,52±1,35	46,50±2,35
Фагоцитарный резерв нейтрофилов (у.е.)	30,51±3,25	64,00±4,31
Комплементарная активность крови (гем.ед)	65,88±5,42	105,7±11,3
Уровень IgA (г/л)	1,34±0,18	2,40±0,21

Примечание: Различия для всех показателей в группах статистически значимы ($p<0,05$).

фически повышенной сопротивляемости. Подчеркивалась большая перспективность такого направления по сравнению с попытками влиять на отдельные звенья в цепи нарушений, развивающихся в организме,

даже при злокачественных новообразованиях [6].

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что беталейкин проявил свойство оказывать влияние на адаптационный статус у больных

Табл.2. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ РМЖ СО СТЕПЕНЬЮ РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ N_{0-1} , ПОЛУЧАВШИХ БЕТАЛЕЙКИН И НХТ

Показатели	До лечения	После беталейкина	После химиотерапии
Лейкоциты ($10^9/\text{л}$)	5,33±0,64	4,71±0,39	2,90±0,32 *
Лимфоциты (%)	31,83±2,65	34,08±2,93	35,10±3,15
Лимфоциты ($10^9/\text{л}$)	1,50±0,18	1,59±0,18	1,03±0,17
CD3 ⁺ (%)	57,91±2,73	62,61±2,78	51,75±4,52
CD3 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,91±2,73	0,99±0,13	0,33±0,02 *
CD4 ⁺ (%)	43,75±1,63	48,38±1,62	38,00±2,04
CD4 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,67±0,09	0,77±0,09	0,26±0,03 *
CD8 ⁺ (%)	35,50±1,52	37,07±1,47	38,25±3,92
CD8 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,55±0,07	0,59±0,08	0,25±0,06
CD4/CD8	1,24±0,03	1,32±0,06	1,03±0,13 *
CD16 ⁺ (%)	20,16±2,38	19,08±2,39	17,25±2,36
CD16 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,34±0,06	0,29±0,04	0,13±0,03
CD72 ⁺ (%)	25,33±2,65	27,46±1,99	31,00±4,03
CD72 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,38±0,06	0,43±0,06	0,20±0,05
CD25 ⁺ (%)	25,83±3,32	26,23±2,14	26,00±3,83
CD25 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,35±0,05 #	0,42±0,07	0,20±0,05
CD95 ⁺ (%)	16,08±3,23	24,75±1,61 * #	22,75±4,31
CD95 ⁺ ($10^9/\text{л}$)	0,21±0,05 #	0,39±0,04 *	0,13±0,03
CH ₅₀ (гем.ед)	80,17±6,05	64,23±5,43	85,30±13,29
НСТ _{спонт} (%)	21,67±4,04	21,53±5,52	18,67±12,72
НСТ _{спонт} (у.е)	25,50±5,20	27,23±7,52	20,67±14,71 +
НСТ резерв (%)	40,33±6,99	39,92±8,00	36,00±17,43
НСТ резерв (у.е)	74,50±14,43	68,46±13,57	61,33±6,36
IgG (г/л)	10,87±1,59	16,64±2,45	14,50±5,46
IgA (г/л)	1,74±0,16	1,93±0,16	2,15±0,38
IgM (г/л)	1,55±0,34	2,01±0,51	1,70±0,45
ЦИК (у.е)	90,76±12,94	98,07±11,31	82,50±17,50
РБТЛ _{сп} (имп/мин)	3389±669	2642±1341	5226±406 # +
ИС _{фра}	12,24±2,44	20,66±4,67	2,67±0,15
ИМТ (%)	42,84±6,19	48,69±4,11	46,67±12,24
С/я нейтрофилы (%)	58,41±3,48	56,50±3,48	54,70±3,09
П/я нейтрофилы (%)	0,08±0,08	0,08±0,08	0,20±0,13
Эозинофилы (%)	2,91±1,12	1,75±0,65	2,70±0,77
Моноциты (%)	6,66±0,69	7,66±1,04	7,00±0,86

Примечание: здесь и в табл. 3, 4 # - статистически значимые различия между показателями в группах N_{0-1} и N_{2+} , * - между показателями до начала и в динамике комбинированного лечения, + - между показателями в группе беталейкина и контроля ($p < 0,05$); ИС_{фра} - индекс стимуляции пролиферации лимфоцитов ФГА; ИМТ - индекс мембранотоксичности ЕКК; с/я и п/я нейтрофилы сегментоядерные и палочкоядерные нейтрофилы, соответственно.

РМЖ. Адаптационная реакция характеризует уровень реактивности организма в целом, его функциональные и пластические резервы. Благоприятным типом реакций соответствует менее энергозатратный уровень функционирования организма по сравнению с реакциями стресса и переактивации. Поскольку применение беталейкина увеличивало долю пациенток с благоприятным типом реакции после

НХТ, то можно полагать, что использование данного препарата способствует сбережению, а, в отдельных случаях, восстановлению защитных ресурсов организма.

Одним из возможных механизмов, лежащих в основе влияния беталейкина на адаптационный статус у больных РМЖ, является его действие на иммунную систему, как на одну из основных регуля-

Табл.3. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ РМЖ СО СТЕПЕНЬЮ РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ N₂, ПОЛУЧАВШИХ БЕТАЛЕЙКИН И НХТ

Показатели	До лечения	После беталейкина	После химиотерапии
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	5,86±0,57	4,70±0,32	3,96±0,38 *
Лимфоциты (%)	35,11±3,25	29,12±3,61	29,33±3,24
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,98±0,18	1,38±0,21 *	1,11±0,12 *
CD3 ⁺ (%)	56,71±4,99	56,71±3,08	51,75±5,51
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,06±0,13	0,85±0,19	0,51±0,15 *
CD4 ⁺ (%)	44,57±3,34	44,00±1,21	35,00±7,93
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,82±0,08	0,63±0,10	0,41±0,15 *
CD8 ⁺ (%)	34,14±3,34	37,50±1,48	29,75±1,18
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,62±0,05	0,56±0,09	0,29±0,07 *
CD4/CD8	1,22±0,14	1,18±0,04	1,13±0,21
CD16 ⁺ (%)	16,14±1,29	17,43±2,71	17,25±1,31
CD16 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,30±0,03	0,24±0,05	0,16±0,02 *
CD72 ⁺ (%)	26,57±2,03	25,37±2,45	22,50±3,50
CD72 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,48±0,02	0,38±0,07	0,23±0,07 *
CD25 ⁺ (%)	27,85±2,34	20,28±3,33	25,25±2,36
CD25 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,51±0,04 #	0,32±0,06 *	0,24±0,05 *
CD95 ⁺ (%)	22,00±3,61	17,12±2,25 #	18,50±2,72
CD95 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,39±0,08 #	0,28±0,05	0,18±0,04
CH ₅₀ (гем.ед)	85,51±7,21	67,93±11,78	108,97±12,85
НСТ _{спонт} (%)	23,11±5,32	27,55±7,01	22,33±7,26
НСТ _{спонт} (y.e)	28,44±8,39	41,77±14,09	25,00±9,54
НСТ резерв (%)	39,77±8,21	28,66±4,42	33,67±1,85
НСТ резерв (y.e)	77,77±15,04	44,88±9,68	52,33±3,18
IgG (г/л)	12,75±2,49	11,53±1,49	14,20±5,18
IgA (г/л)	1,34±0,23	2,24±0,32 *	2,20±0,14 *
IgM (г/л)	1,23±0,27	2,23±0,61	6,42±5,11
ЦИК (y.e)	101,66±19,45	88,88±9,53	117,50±31,46
РБТЛ _{сп} (имп/мин)	4665±1899	3884±1341	1701±198
ИС _{фра}	10,71±2,94	14,62±4,34	9,37±4,15
ИМТ (%)	33,55±4,62	46,89±6,23	48,00±5,26
С/я нейтрофилы (%)	55,22±3,94	62,50±3,69	55,89±4,49
П/я нейтрофилы (%)	0,33±0,23	0,25±0,16	0,03±0,03
Эозинофилы (%)	2,11±0,73	3,00±1,73	4,22±1,56
Моноциты (%)	7,66±0,60	5,25±0,84 *	9,67±1,76

торных систем организма, определяющую естественную резистентность в целом. Использование беталейкина сопровождалось достоверно более высоким уровнем ряда показателей системы иммунитета после проведения НХТ по сравнению с группой контроля, в которой эти параметры были снижены относительно исходных значений (табл.1). Однако этот феномен отмечен лишь для тех пациенток, у кото-

рых до начала лечения был выявлен благоприятный тип адаптационной реакции. Иммунологические показатели у больных РМЖ с исходным неблагоприятным типом адаптационной реакции от соответствующих значений контрольной группы статистически значимо не отличались. Очевидно, при проведении цитостатического лечения беталейкин способствует сохранению резервов иммунной системы, но

Табл.4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ РМЖ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ СО СТЕПЕНЬЮ РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ N₀₋₁

Показатели	До лечения	После химиотерапии
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	5,46±0,43	3,35±0,33 *
Лимфоциты (%)	33,56±2,51	28,78±2,41
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,81±0,17	0,93±0,09 *
CD3 ⁺ (%)	58,64±2,19	58,11±3,41
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,11±0,15	0,47±0,07 *
CD4 ⁺ (%)	39,57±1,72	42,11±1,71
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,71±0,09	0,34±0,05 *
CD8 ⁺ (%)	36,22±3,18	35,22±3,18
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,67±0,08	0,29±0,06 *
CD4/CD8	1,09±0,05	1,25±0,09
CD16 ⁺ (%)	19,23±2,94	18,22±1,61
CD16 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,39±0,11	0,15±0,03
CD72 ⁺ (%)	28,23±1,88	28,33±1,84
CD72 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,51±0,06	0,23±0,03 *
CD25 ⁺ (%)	24,46±2,48	26,00±3,23
CD25 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,42±0,05	0,23±0,05
CD95 ⁺ (%)	21,35±2,45	21,12±2,38 *
CD95 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,39±0,06	0,18±0,04
CH ₅₀ (гем.ед)	85,41±10,85	66,41±9,02 *
НСТ _{спонт} (%)	27,33±4,71	27,45±4,29
НСТ _{спонт} (y.e)	34,47±7,27	34,81±7,10 *
НСТ резерв (%)	38,28±6,43	21,09±3,18 *
НСТ резерв (y.e)	69,00±10,54	32,90±5,06 *
IgG (г/л)	13,42±1,42	11,85±2,11
IgA (г/л)	2,34±0,35	1,65±0,20
IgM (г/л)	1,95±0,35	1,92±0,89
ЦИК (y.e)	68,44±13,43	89,09±16,16
РБТЛ _{сп} (имп/мин)	2281±323	1762±330 +
ИС _{фра}	13,65±2,55	13,02±3,69
ИМТ (%)	34,69±5,01	43,20±4,03
С/я нейтрофилы (%)	55,37±3,06	59,64±2,98
П/я нейтрофилы (%)	1,12±1,06	0,07±0,07
Эозинофилы (%)	2,93±1,02	2,00±0,59
Моноциты (%)	8,00±0,95	8,21±1,20

только в случае наличия адаптационных возможностей организма, и не оказывает значимого влияния при отсутствии таковых.

Степень вовлечения регионарных лимфатических узлов в опухолевый процесс – один из важнейших факторов прогноза рака молочной железы, характеризующий его агрессивность [20, 24]. Кроме того, степень локо-регионарного метастазирования можно рассмотреть как показатель взаимодействия «организм-опухоль»: чем обширнее метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов, тем агрессивнее опухоль или ниже уровень естественной резистентности организма.

Действительно, при оценке иммунного статуса у больных РМЖ до начала противоопухолевого лечения выявилось, что степень распространения опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы коррелирует с содержанием $CD25^+$ и $CD95^+$ лимфоцитов в периферической крови пациенток. У больных с более благоприятным статусом N_{0-1} абсолютное число лимфоцитов указанных субпопуляций было достоверно ниже соответствующих показателей у пациенток с N_2 (табл. 2, 3). При этом следует отметить, что абсолютное количество $CD25^+$ лимфоцитов у практически здоровых женщин, ранее обследованных в нашей лаборатории, соответствует показателям у больных РМЖ с N_{0-1} ($0,35 \pm 0,04$ Г/л), а количество $CD95^+$ лимфоцитов выше, чем у больных РМЖ обеих сравниваемых групп [26]. Увеличение экспрессии на лимфоцитах периферической крови как антигена $CD25$ – рецептора к интерлейкину-2, так и $CD95$ – рецептора, индуцирующего апоптоз, свидетельствует о повышении степени активации иммунокомпетентных клеток [2]. Следовательно, у больных РМЖ с клинически неблагоприятным статусом (N_2) иммунная система исходно находится в более активированном состоянии, что, вероятно, можно объяснить циркуляцией в кровотоке большего количества опухолевых антигенов.

Использование в предоперационном периоде беталейкина практически не оказало влияния на иммунологические показатели у пациенток с более благоприятным клиническим течением (N_{0-1}), которые исходно были близки к показателям нормы [26]. Действие биопрепарата проявилось лишь в достоверном увеличении числа $CD95^+$ лимфоцитов до уровня показателей здоровых лиц (табл.2). У пациенток с N_2 исходно увеличенные значения после биотерапии нормализовались (табл. 2, 3). Характеризуя выявленное влияние беталейкина на динамику иммунологических показателей у больных операбельными формами РМЖ, следует отметить, что препарат проявляет свойство нормализовать состояние иммунной системы, т.е. его применение приводит не только к повышению сниженных иммунологических показателей, но и снижает увеличенную активность

иммунокомпетентных клеток до уровня нормы, что указывает на его адаптогенные свойства [13].

Протекторный эффект беталейкина в отношении лейкопоза в условиях проведения полихимиотерапии, выявленный ранее [7, 8], был отмечен и в нашем исследовании. Однако степень защитного влияния беталейкина на клетки белого ростка кроветворения также зависела от распространенности опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы у больных РМЖ. Наиболее эффективным оказалось комбинированное применение беталейкина и полихимиотерапии у больных РМЖ с N_{0-1} . У пациенток этой группы наряду с уменьшением негативного воздействия цитостатиков на количественные показатели субпопуляций лимфоцитов был отмечен более высокий уровень спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов по сравнению с больными, получившими НХТ без предварительного курса лечения беталейкином. Включение беталейкина в схему противоопухолевого лечения больных РМЖ с более обширным поражением регионарных лимфатических узлов (N_2) не оказало выраженного влияния на количественные показатели субпопуляций лимфоцитов.

В отношении функциональной активности нейтрофильных фагоцитов протекторное действие беталейкина отмечено практически у всех пациенток, независимо от вовлеченности в опухолевый процесс регионарных лимфатических узлов. Показатели НСТ-теста у больных РМЖ с включением в схему лечения беталейкина оставались на уровне исходных значений в отличие от пациенток, получивших ПХТ без модификатора, у которых они значительно снижались. Данный факт может быть связан с прямым стимулирующим влиянием $IL-1\beta$ на продукцию активированных форм кислорода нейтрофилами, которое ранее было показано в исследованиях *in vitro* [3].

Метастатическое поражение костей скелета у 2-х больных с обширным метастатическим поражением лимфатических узлов в определенной мере можно расценить как недостаточный уровень неспецифической сопротивляемости к дополнительным нагрузочным воздействиям, в том числе, как к злокачественному росту, так и к проводимому противоопухолевому лечению. Однако выявленный феномен ригидности иммунной системы у пациенток РМЖ с N_2 и неблагоприятным исходом заболевания может выступить в качестве индикатора состояния системы естественной резистентности, характеризуя отсутствие возможности адекватного реагирования организма.

Таким образом, на основании представленных данных можно полагать, что применение беталейкина до начала специфического противоопухолевого лечения способствует не только сохранению, но и восстановлению адаптационных возможностей

у ряда пациенток с операбельными формами РМЖ. Эффективность протекторного действия беталейкина на иммунологические показатели у больных РМЖ определяется степенью вовлечения регионарных лимфатических узлов в опухолевый процесс и исходным типом адаптационной реакции. Высокий риск неблагоприятного исхода заболевания у больных РМЖ с обширным метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов ассоциирован с ригидностью иммунной системы, что следует учитывать при назначении корригирующей терапии.

Список литературы

1. Балицкий К.П., Шмалько Ю.П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. – Киев: «Наукова думка». – 1987. – 248 с.
2. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза. – М.: «Эдиториал Урсс». – 2002. – 320 с.
3. Бахметьев Б.А., Симбирцев А.С., Лихачева Н.С. Сравнительный анализ влияния IL-1 α и IL-1 β на функции различных популяций фагоцитирующих клеток *in vitro* // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 525-532.
4. Бережная Н.М. Интерлейкины и формирование иммунологического ответа при злокачественном росте // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 45-56.
5. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. – Киев: «Наукова думка». – 1998. – 189 с.
6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. – М.: «ИМЕДИС». – 1998. – 658 с.
7. Гершанович М.Л., Кетлинский С.А., Филатова Л.В., Данова Л.А., Короленко В.О., Симбирцев А.С. Стимулирующее и протекторное влияние рекомбинантного интерлейкина-1 β (беталейкина) на лейкопоэз при химиотерапии злокачественных опухолей // Вопр. Онкол. – 1996. – Т. 42, № 6. – С. 13-18.
8. Гершанович М.Л., Филатова Л.В., Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Беталейкин (рекомбинантный интерлейкин-1 β человека) в профилактике и коррекции токсической лейкопении при комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей // Вопр. Онкол. – 1998. – Т. 44, № 2. – С. 181-186.
9. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Удуд В.В., Наумов С.А., Хлусов И.А. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса. – Томск: Издательство Томского университета. – 1996. – 304 с.
10. Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. – Томск: Издательство Томского университета. – 2000. – 130 с.
11. Ковальчук Л.В., Соболев Б.Н., Ганковская Л.В., Юдин А.А. Анализ молекулярного взаимодействия в системе: IL-1 β – IL-1RA – IL-1R // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 6-10.
12. Кулинский В.И., Ольховский И.А. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов // Успехи современной биологии. 1992. Т.11. Вып.5-6. С. 697-714.
13. Лазарев Н.В. Сопоставление неспецифических защитных реакций, влияющих на генерализацию инфекций и метастазирование опухолей // Вопр. Онкологии. – 1962. – № 11. – С. 20-28.
14. Михайлова Н.Б., Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Беталейкин (rhIL-1) как протектор гемопоэза при интенсивной полихимиотерапии // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 28-31.
15. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Симбирцев А.С., Ломатидзе Л.В. Влияние длительного введения синтетического дипептида на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов в эксперименте *in vivo* // Иммунология, 1999, №6, С.40-43, С.60-62.
16. Пашинский В.Г., Яременко К.В. Проблемы онкологической фармакотерапии. – Томск: Издательство Томского университета. – 1983. – 204 с.
17. Петров Р.В., Хайтов Р.И., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях. Методические рекомендации // Иммунология. – 1992. – № 6. – С. 51-62.
18. Петров С.В., Симбирцев А.С., Бубнова Н.А., Рыбакова Е.В., Фионик О.В., Волкова Е.С. Использование интерлейкина-1 β для местного лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии // Мед. иммунология. – 2001. – Т. 3, № 4. – С.533-539.
19. Рыкова Н.М., Спиранде И.В., Зедгенидзе М.С. Высокочувствительная модификация метода определения активности нормальных киллеров // Иммунология. – 1981. – № 3. – С. 88-90.
20. Семиглазов В.Ф. Меняющаяся роль хирургического и системного лечения операбельного рака молочной железы // Материалы VI ежегодной Российской онкологической конференции. – М., 2002. – С.10-12.
21. Симбирцев А.С. Цитокины семейства интерлейкина-1: новые возможности системной и местной иммунотерапии // Иммунология Урала: материалы II конференции иммунологов Урала. – 2002. – № 1. – С. 58.
22. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9-16.
23. Тотолян А.А., Балдуева И.А., Бубнова Л.Н., Закревская А.В., Зуева Е.Е., Калинина Н.М., Лиси-

цина З.Н. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека // Клинич. лабор. диагностика. – 2001. - № 8. – С. 38-45.

24. Хайленко В.А. Ранняя диагностика рака молочной железы // Материалы VI ежегодной Российской онкологической конференции. – М., 2002. – С.1-3.

25. Хоробрых В.В., Пронин А.В., Киркин А.Ф., Санин А.В. Методы постановки реакции бласттрансформации в микромодификации // Иммунология. – 1983. - № 3. – С. 76-79.

26. Slonimskaya E., Tcherdyntseva N., Afrimzon E. Immune parameters in patients with proliferative dis-

eases and breast cancer: a comparative study // Archive of oncology. – 1999. – 7(2). – P. 59-62.

27. Fibbe W.E., Falkenburg J.H.F. Regulation of hematopoiesis by interleukin-1 // Biotherapy. - 1990. – Vol. 2. – P. 1-19.

28. Gorelik E., Segal S., Feldman N. Immunological and nonimmunological mechanisms in the interactions between the local tumor and its metastasis // Metastatic Tumor Growth. – 1980. – P. 159-165.

29. Veltri S., Smith J.W. Interleukin 1 trials in cancer patients: a review of the toxicity, antitumor and hematopoietic effects // Stem cells. – 1996. - Vol. 14, № 2. – P. 164-176.

поступила в редакцию 11.10.2004

принята к печати 26.12.2004