

ПОПЫТКА УСИЛЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ЛИЦ ИЗ ГРУПП РИСКА И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Л.Н.Мкртчян, З.Р.Тер-Погосян, Г.А.Джилавян

*/Онкологический научный центр МЗ РА/
375025 Ереван, Фанарджяна, 76*

Ключевые слова: иммунодефицит, раково-эмбриональные антигены, моноклональные антитела

Вопросы профилактики рака с помощью противоопухолевых вакцин, способных вызывать активный иммунный ответ, находятся в центре внимания онкологов и иммунологов [2-4]. Одним из современных направлений в разработке таких вакцин является усиление иммунологической памяти к раково-эмбриональным антигенам (РЭА), постоянно обнаруживаемым в опухолях различного гистогенеза [5]. Как известно, РЭА с их выраженным иммунодепрессивным действием играют важную роль в развитии относительной толерантности организма к растущей опухоли. Отдельные экспериментальные исследования свидетельствуют о возможности снятия толерантности к опухоли путем предварительной иммунизации РЭА.

В Онкологическом научном центре Армении на протяжении нескольких лет изучается биологическая активность, а также проводятся клинические испытания нового препарата — “эмбрионального противоопухолевого модулятора” (ЭПОМ), содержащего широкий спектр РЭА [2-5].

В эксперименте доказано четко выраженное антиканцерогенное действие ЭПОМ и способность его к индукции интерферона *in vivo*. Помимо противоопухолевого, ЭПОМ обладает также антивирусным и антимутагенным действием. В основе механизма действия препарата лежит формирование активного иммунного ответа и усиление неспецифической противоопухолевой резистентности.

Материал и методы

В исследование было включено 42 больных с распространенными и начальными формами злокачественных новообразований и 28 здоровых добровольцев. Вакцинация проводилась исключительно по настоянию пациентов.

В I группу (здоровые добровольцы) входили в основном лица с различными факторами риска — семейная предрасположенность, длительное курение, факультативные и облигатные предраковые заболевания, а также лица в возрасте старше 45 лет.

Во II группу входили 22 больных с начальными стадиями ($T_1N_0M_0$) рака шейки матки (РШМ) после оперативного вмешательства. Средний возраст больных — 44 года.

III группа включала 20 пациентов с генерализованными формами ($T_{2-3}N_1M_0$) рака молочной железы (РМЖ) с морфологически подтвержденным диагнозом. Средний возраст больных — 51 год.

В ходе лечения контролировались общее состояние больных, а также биохимические показатели крови и мочи. Больные РМЖ получали химиотерапию по традиционным схемам, больным РШМ произведена операция Вертгейма. Во всех случаях имела место морфологическая верификация диагноза.

Лимфоциты периферической крови выделялись на градиенте плотности фиколл-гипак [1]. Общее число Т-лимфоцитов и уровень регуляторных субпопуляций CD4+ и CD8+ определяли с помощью моноклональных антител (Dynal, Dynabeads M-450, Oslo, Norway).

Препарат ЭПОМ приготавливался по методике, разработанной в ОНЦ МЗ РА (патент РФ N 2055589), и применялся в виде лиофилизированного порошка; в качестве растворителя использовался физраствор. Препарат вводили подкожно в среднюю треть предплечья в дозе 2.5 мг. Показатели иммунитета изучались до и через 7 дней после иммунизации ЭПОМ.

Результаты и обсуждение

В I группе вакцинация была проведена двукратно (суммарная доза 5 мг) с интервалом в 10 дней. Иммунологический анализ проводили до и после вакцинации. Местная реакция на ЭПОМ выражалась в развитии инфильтрата и гиперемии с пиком к 10–12 часам и сохранялась до 24 часов, затем к 48–72 часам постепенно угасала. Общей реакции ЭПОМ, как правило, не вызывал.

Учитывая доминирующую роль клеточных факторов защиты в противоопухолевой резистентности, были изучены показатели Т-клеточного иммунитета (табл. 1).

Как видно из данных таблицы, вакцинация ЭПОМ не влияла на уровень CD4+ клеток, но вызвала тенденцию к увеличению как относительных, так и абсолютных показателей CD8+ клеток, вследствие чего несколько снижался индекс соотношения CD4+/CD8+. После вакцинации отмечено достоверное повышение количества Т-клеток, определяемых в тесте Е-розеткообразования (Е-РОК) с эритроцитами барана; одновременно возрастало число высокоаффинных Е-РОК. Вакцинация не влияла на относительный и абсолютный показатели В-клеток, определяемые в тесте М-РОК.

Следует отметить, что приведенные данные коррелируют с данными, полученными *in vitro* при действии ЭПОМ на моноклеары крови здоровых лиц, в дозе, адекватной иммунизирующей.

Таблица 1

Иммунологические показатели у вакцинированных ЭПОМ здоровых лиц

Иммунологические показатели	До вакцинации	После вакцинации	t	P
CD4+ (тыс. на 10 ⁶)	386 ± 34,2	402 ± 53,7		
CD8+ (тыс. на 10 ⁶)	210 ± 21	250 ± 33,1	0.3	0.7
CD4+, %	38.6 ± 5.1	40.2 ± 6.3		
CD8+, %	21.0 ± 2.9	25.1 ± 3.3		
T-клетки, %	59.6 ± 2.1	66.0 ± 3.2	1.7	0.1
CD4+, абс.	594.5 ± 46	619 ± 37		
CD8+, абс.	323.4 ± 29	367.5 ± 31.1		
Е-РОК, %	54 ± 3.0	63 ± 2.9	2.15	<0.05
Высокоаффинные Е-РОК, %	15.1 ± 2.2	22.5 ± 3.0	2.08	0.05
Средне- и низкоаффинные Е-РОК, %	39.5 ± 4.3	41.0 ± 5.6		
CD4+/CD8+	1.8 ± 0.5	1.6 ± 0.4		
В-лимфоциты, %	13.3 ± 2.2	18.1 ± 1.8	1.7	0.1
В-лимфоциты, абс.	195 ± 34	266 ± 21.3		

С целью выяснения возможности развития специфического клеточного иммунитета к ЭПОМ у вакцинированных была использована реакция подавления прилипания лейкоцитов (РППЛ). До вакцинации результаты реакции были отрицательными у всех 28 обследованных, об этом свидетельствовал индекс подавления, который колебался в пределах 0.85–1.2. После вакцинации специфическая сенсibilизация к ЭПОМ была выявлена у 14 из 28 вакцинированных, что составляет 63,6%. Индекс подавления у лиц с положительным результатом РППЛ был в пределах 0.8–0.55 (усредненный индекс – 0,7±0,15).

Вакцинация добровольцев была начата в феврале 1993 г., для большинства из них срок наблюдения составляет 4–5 лет. Ревакцинация (19 из 28) проводилась ежегодно. До настоящего времени у систематически обследуемых в ОНЦ лиц опухолевой патологии не обнаружено.

Во II группе вакцинация ЭПОМ была проведена в качестве не только профилактического, но и иммунотерапевтического средства. Основанием к этому являлся широкий спектр его биологической активности, включая иммуномодулирующее, противоопухолевое и интерферогенное действия.

Иммунологические параметры были изучены до и спустя 7–14 дней после вакцинации. Помимо неспецифических показателей иммунитета, изучено действие ЭПОМ на динамику специфического теста – РППЛ. Следует отметить, что усредненные показатели неспецифического иммунитета у больных РШМ почти не отличались от нормы (табл. 2).

Таблица 2

Иммунологические показатели у вакцинированных ЭПОМ больных раком шейки матки

Иммунологические показатели	До вакцинации	После вакцинации	t	P
CD4+ (тыс. на 10 ⁶)	350 ± 23	398 ± 31		
CD8+ (тыс. на 10 ⁶)	160 ± 12	205 ± 22		
CD4+/CD8+	2.16	1.94		
CD4+, %	35 ± 3.2	39.8 ± 3.3		
CD8+, %	16 ± 0.9	20.5 ± 2.2		
CD4+, абс.	458 ± 51	521 ± 37		
CD8+, абс.	209 ± 35	268 ± 44		
Т-клетки, %	51 ± 2.1	60.3 ± 4.1	2.2	0.05
Т-клетки, абс.	667 ± 72	789 ± 59		
Т-клетки в Е-РОК, %	45 ± 2.1	53.0 ± 3.0	2.18	0.05
Высокодиф. Е-РОК, %	12 ± 0.9	18 ± 1.5	3.42	<0.01
В-лимфоциты, %	14 ± 3.1	16 ± 2.9		
В-лимфоциты, абс.	183 ± 17	209 ± 33		
Частота полож. РППЛ	2 из 12	6 из 12		
РППЛ полож., %	16.6	50		

Вакцинация вызвала тенденцию к увеличению уровня CD4+ и CD8+ Т-клеток, следствием чего явилось повышение уровня Т-клеток ($p=0.05$), о чем свидетельствуют и результаты теста Е-РОК после вакцинации. При этом статистически значимо увеличивается число высокодифференцированных Е-РОК (морулл), т.е. Т-клеток, обогащенных рецепторами к эритроцитам барана. Вакцинация существенно не влияла на абсолютные и относительные показатели В-лимфоцитов.

Следует особо отметить, что у больных РШМ до вакцинации частота положительных результатов РППЛ не превышала 16%, однако после вакцинации она значительно повысилась (до 50%), что свидетельствует о специфической сенсibilизации лимфоцитов больных к ЭПОМ и содержащимся в нем онкофетальным антигенам.

Итак, вакцинация больных РШМ до начала традиционной терапии (операция, облучение) вызвала ряд положительных сдвигов в показателях Т-клеточного иммунитета и способствовала формированию специ-

фического иммунитета (по результатам РППЛ) у 50% больных к содержащимся в ЭПОМ белкам.

В III группе вакцинация проведена спустя месяц после окончания химиотерапии с целью снижения риска возникновения рецидивов и метастазов.

Кожная реакция на вакцинацию ЭПОМ наблюдалась у 67% больных и была значительно менее выражена по сравнению с I и II группами.

Результаты иммунологического анализа до и после вакцинации представлены в табл. 3.

Таблица 3

Иммунологические показатели у вакцинированных ЭПОМ больных раком молочной железы

Иммунологические показатели	До вакцинации	После вакцинации
CD4+ (тыс. на 10 ⁶)	290 ± 37	305 ± 42
CD8+ (тыс. на 10 ⁶)	220 ± 18	280 ± 35
CD4+/CD8+	1.32 ± 0.4	1.09 ± 0.25
CD4+, %	29 ± 4.5	30.5 ± 5.3
CD8+, %	22 ± 1.4	28 ± 3.1
CD4+, абс.	250 ± 36	263 ± 41
CD8+, абс.	190 ± 22	241 ± 28
Т-клетки, %	51 ± 3.7	58 ± 4.2
Т-клетки, абс.	380 ± 39	362 ± 41
Т-клетки в Е-РОК, %	44 ± 5.9	42.0 ± 3.7
Высокоафф. Е-РОК, %	9 ± 1.5	13 ± 2.3
В-лимфоциты, %	14 ± 1.7	15 ± 3.6
В-лимфоциты, абс.	120 ± 31	129 ± 42
Частота полож. РППЛ	10 из 22	12 из 22
РППЛ полож., %	45.45	54.5

Следует отметить, что у лиц III группы до вакцинации по сравнению с показателями лиц I группы снижен уровень CD4+ клеток, следствием чего является нарушение соотношения CD4+/CD8+, и соответственно снижение индекса с 1,83 до 1,3. У больных РМЖ до вакцинации были достоверно снижены (по сравнению со здоровыми) также число Т-клеток в тесте Е-РОК и уровень высокоаффинных Е-РОК. Эти данные свидетельствуют о наличии у лиц III группы Т-клеточного иммунодефицита как количественного, так и функционального.

У лиц с РМЖ в отличие от здоровых вакцинация не вызывала значимого увеличения уровня Т-клеток в тесте Е-РОК и не влияла существенно на число высокоаффинных Е-РОК. В то же время в связи с более выраженным, чем у здоровых лиц, увеличением уровня Т-супрессоров (CD8+), дисбаланс Т-субпопуляций после вакцинации стал более выраженным (снижение индекса CD4+/CD8+ с 1.3 до 1.09). Итак, у пациентов III группы, имеющих выраженный Т-клеточный иммунодефицит, иммунизация не вызывает положительных иммунологических сдвигов, наблюдаемых в I группе.

Полученные результаты свидетельствуют об определенном положительном эффекте проведенной вакцинации ЭПОМ при начальных стадиях злокачественных опухолей и об отсутствии иммунологических сдвигов при запущенных формах рака.

Поступила 02.04.99

ՈՒՍԿԻ ԽՄԲԻ ԵՎ ՈՒՌՈՒՅՔԱՅԻՆ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ՄՈՏ ՈՉ ՍՊԵՑԻՖԻԿ ՀԱԿԱՌՈՒՌՈՒՅՔԱՅԻՆ ԴԻՄԱԴՐՈՑԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԲԱՐՉՐԱՅՄԱՆ ՓՈՐՉԸ

Լ.Ն. Մկրտչյան, Զ.Ռ. Տեր-Պողոսյան, Գ.Ա. Զիլավյան

Ուսումնասիրված է հակառուսոցային, իմունոֆերոնաձին և հակամուսագին հատկություններով օժտված ՊՄՄ-ի հնարավոր իմունամոդուլացիոն ազդեցությունը:

Համավորների (առողջներ և ուռուցքով հիվանդներ) մոտ ՊՄՄ իմունիզացումից առաջ և հետո ուսումնասիրվեցին մի քանի իմունաբանական ցուցանիշներ:

Համաձայն ստացված տվյալների ՊՄՄ-ի ներարկումը հիվանդների մոտ չի առաջացրել ընդհանուր ռեակցիա և որոշ դեպքերում հանգեցրել է ուսումնասիրված ցուցանիշների կանոնավորմանը:

THE EXPERIENCE OF INTENSIFICATION OF NONSPECIFIC IMMUNITY IN ONCOLOGICAL PATIENTS AND RISK GROUP PERSONS

L.N.Mkrtchian, Z.R.Ter-Poghossian, G.A.Jilavian

Embryonic Polyvalent Modulator (EPOM), original preparation obtained in Cancer Research Center of Armenia, contains the pool of glycoproteids and among them a variety of antigens (OFA) which are the most permanent markers of various tumor cells. However, it is known that OFA possess immunosuppressive properties, that's why in vitro the effect of two doses of EPOM on the level of human T-lymphocyte subpopulations was studied. According to received data the dose used for immunization of volunteers did not disturb the subpopulations of T-cells.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boyum A. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1968, 21, 97, p. 77.
2. Hellstrom K. E., Hellstrom I., Hu S. L. Cancerogramm, July 1992, p. 132.
3. Hellstrom K. E., Hellstrom I., Lieping C. 6th International Congress on Anticancer Treatment. Paris, 1996.
4. Kellen J., Kolin A., Acevedo H. Cancer, 1982, 49, 11, p. 2300.
5. Levy L. 3th International Congress on Anticancer Treatment. Paris, 1993.