

Д. К. Кенбаева¹, З. А. Манамбаева²

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

¹Городской онкологический диспансер г. Астана, 100000; Астана, Республика Казахстан; ²Государственный медицинский университет г. Семей, 071400, Семей, Республика Казахстан

Обследованы 117 больных раком шейки матки IIВ и III стадии, подвергавшихся сочетанной лучевой терапии, а также специфической иммунотерапии и адоптивной иммунотерапии. Определена динамика содержания ряда цитокинов (интерлейкины 2, 6, 10, 12, фактор некроза опухоли α). Выявлено значительное превышение содержания противовоспалительных факторов над факторами стимулирующими пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов на фоне снижения содержания практически всех интерлейкинов. Степень нарушений зависела от стадии новообразования. Применение способа лечения, включающего специфическую и адоптивную иммунотерапию, способствовало активации продукции интерлейкинов и ликвидации иммунорегуляторного дисбаланса.

Ключевые слова: рак шейки матки, специфическая иммунотерапия, адоптивная иммунотерапия, цитокины.

PECULIARITIES OF CYTOKINE REGULATION IN PATIENTS WITH MALIGNANT TUMORS OF THE CERVIX DURING CANCER THERAPY

D.K.Kenbaeva¹, Z.A. Manambaeva²

¹ City Cancer Center Astana, 100000, Astana, Republic of Kazakhstan; ² State Medical University, Semey, 071400, Semey, Republic of Kazakhstan

The study included 117 patients with cervical cancer stage IIВ and III undergoing combined radiotherapy and also specific immunotherapy and adoptive immunotherapy. The dynamics of a number of cytokines content has been defined (interleukin-2, -6, -10, -12, tumor necrosis factor-α). There was a significant excess of anti-inflammatory factors over stimulators of proliferation and differentiation of lymphocytes against the reduction of almost all the interleukins. The degree of impairment was dependent on the stage of the tumor. Application of the treatment method, which includes a specific and adoptive immunotherapy, promoted activation of interleukin production and elimination of immunoregulatory imbalance.

Key words: cervical cancer, specific immunotherapy, adoptive immunotherapy, cytokines.

Рак шейки матки (РШМ) — одна из наиболее частых форм злокачественных новообразований у женщин. По распространенности в популяциях развитых стран он находится в последние годы на 4—5-м месте [1]. Лечение данной патологии до настоящего времени может быть радикальным лишь при раннем выявлении, тогда как в условиях нашей страны частота запущенных случаев может превышать 40% [2], поскольку наличие современных методов скринингового обследования вовсе не предполагает применение их даже в группах риска, не говоря обо всем населении, недостаточна квалификация сотрудников общей медицинской сети, низкая санитарная культура населения. Поэтому совершенствование консервативного лечения РШМ остается актуальной задачей.

В большом числе современных исследований рассматривается роль цитокинов в патогенезе и при лечении злокачественных новообразований. При этом, несмотря на наличие хорошо разработанных методов исследования, стандартизацию подходов к определению тех или иных цитокинов, в литературе содержатся совершенно разноречивые данные о направленности и степени их изменений у больных злокачественными новообразованиями как в ткани опухоли, так и в сыворотке крови [3—5].

Цель исследования — определить особенности содержания цитокинов в сыворотке крови у больных РШМ, в том числе на фоне противоопухолевой терапии.

Материал и методы

В работе обследованы 117 больных РШМ, подвергавшихся сочетанной лучевой терапии, в возрасте от 30 до 70 лет.

Критерии включения больных в исследование предусматривали: наличие РШМ IIВ (T2bN0M0) и III (T1-2N1M0, T3N0-1M0) стадий при первичном обследовании, возраст от 30 до 70 лет, осуществление сочетанной лучевой терапии, наличие информированного согласия пациенток на проведение обследования и комбинированного лечения.

Критерии исключения: отсутствие информированного согласия пациентки или отказ ее от участия в исследовании на любом этапе, кроме последнего (обработка информации); проведение оперативного вмешательства; наличие тяжелых соматических заболеваний, летальный исход в течение первых 3 мес после первичного исследования.

Сочетанная лучевая терапия (СЛТ) состояла из дистанционной и внутритоплюстной гамма-терапии. Дистанционную гамма-терапию в статическом или подвижном режиме проводили на область первичной опухоли и зоны возможного параметрального и лимфогенного распространения, чередуя с сеансами внутритоплюстной гамма-терапии. Суммарная очаговая доза в точке В от дистанционного облучения 40 Гр.

Внутритоплюстное облучение осуществлялось методом введения метрокольпостатов и радиоактивных источников низкой активности до суммарной очаговой дозы 50—60 Гр в точке А или источников высокой активности (последовательное автоматизированное вве-

Для корреспонденции: Кенбаева Динара Кумаровна — зав. гинекологическим отделением; e-mail: dickenb@mail.ru

Таблица 1

Содержание некоторых цитокинов в сыворотке крови у больных РШМ II стадии

Показатель, пг/мл	Контрольная группа (n = 45)		Больные РШМ II стадии (n = 60)		p
	диапазон значений показателей	M±m	диапазон значений показателей	M±m	
IL-2	4,0—30,0	11,3±0,5	1,0—25,0	8,2±0,3	< 0,01
IL-6	2,0—15,0	7,3±0,4	0,5—10,0	4,4±0,3	< 0,01
IL-10	1,0—26,0	8,5±0,4	2,0—31,0	8,3±0,4	> 0,05
IL-12	0,3—10,0	2,3±0,2	0,8—28,0	8,5±0,6	< 0,01
ФНОα	2,0—17,0	4,4±0,3	2,0—25,0	6,1±0,4	< 0,05

дение на аппарате "Агат-В" с фракционированием по 5 Гр — 10 сеансов).

У части больных (19 пациенток со II и 20 — с III стадией РШМ) проводилась в те же сроки специфическая иммунотерапия (СИТ), заключающаяся в реинфузии аутолимфоцитов, активированных *in vitro* препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 (ронколейкин) и инкубированных с гомогенатом биопсийного материала новообразования. В другой группе 36 больных РШМ (19 с II и 17 с III стадией) получали дополнительно адоптивную иммунотерапию (АИТ) препаратами флогэнзим (3 таблетки 3 раза в день в течение 7 сут) и ронколейкин в дозе 200 000—250 000 МЕ/кг в течение 4 нед через 2 сут внутривенно капельно.

Исследование содержания цитокинов осуществлялось количественным иммуноферментным методом [6] с использованием диагностикумов фирмы "Вектор-Бест" (Барнаул, Россия) для определения IL-2 (№ по каталогу А-8772) IL-6 (А-8768) и фактора некроза опухолей α (ФНОα) (А-8756); фирмы "Bender MedSystems" (Австрия) для определения IL-12 (№ по каталогу BMS238). Первичное обследование осуществлялось до начала лучевой терапии и ИТ, повторное — в середине курса лучевой терапии, при достижении суммарной очаговой дозы 20 Гр.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием параметрических (определение статистической значимости различий по Стьюденту) и непараметрических (по критерию χ^2 Пирсона) методов. Параметрический метод использован при соблюдении граничных условий (нормальное распределение в обеих сравниваемых группах и равенство дисперсий), непараметрический — во всех остальных случаях. Данные в таблицах представлены в виде суммы средних значений и среднеквадратичных отклонений. Критерием статистической значимости различий служило наблюдение условия $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Наши данные свидетельствуют о наличии односторонних изменений содержания некоторых цитокинов, степень которых связана со стадией заболевания. В частности, полученные при обследовании больных РШМ II стадии данные представлены в табл. 1.

Статистически значимые различия с показателями контрольной группы были зарегистрированы по содержанию IL-2, IL-6, IL-12 и ФНОα. При этом если в отношении третьего и четвертого из названных цитокинов отмечалось повышение, то содержание IL-2 и IL-6 снижалось (на 27,4 и 39,7% относительно контрольной группы соответственно; $p < 0,01$ в обоих случаях).

Большой интерес вызывает IL-12, обладающий полипотентным противоопухолевым эффектом. Он усиливает активность Т-киллеров, NK- и LAK-клеток. IL-12 активирует и цитотоксичность макрофагов, а де-

Таблица 2

Содержание некоторых цитокинов у больных РШМ III стадии

Показатель, пг/мл	Контрольная группа (n = 45)		Больные РШМ III стадии (n = 57)		p
	диапазон значений показателей	M±m	диапазон значений показателей	M±m	
IL-2	4,0—30,0	11,3±0,5	1,0—21,0	7,7±0,3	< 0,01
IL-6	2,0—15,0	7,3±0,4	0,3—8,0	3,7±0,2	< 0,01
IL-10	1,0—26,0	8,5±0,4	1,0—28,0	8,1±0,5	> 0,05
IL-12	0,3—10,0	2,3±0,2	1,1—43,0	15,8±1,9	< 0,01
ФНОα	2,0—17,0	4,4±0,3	2,0—34,0	7,9±1,0	< 0,05

фицит его продукции может снижать противоопухолевую активность. Усиление роста опухоли, в частности рака прямой кишки, ассоциируется со снижением продукции IL-12 и усилением продукции IL-10. Важными свойствами IL-12 являются усиление экспрессии FasL и индукция апоптоза [7, 8]. Рекомбинантный IL-12 способен препятствовать метастазированию в лимфатические узлы. IL-12 замедляет у онкологических больных развитие кахексии и анемии, индуцированной IL-1β и IL-6 [9].

В ряде исследований содержатся данные об отсутствии изменений содержания IL-12 при различных злокачественных новообразованиях, в том числе РШМ [10]. Однако другие авторы утверждают, что его концентрация может значительно повышаться (вплоть до сотен раз по сравнению со здоровыми лицами) [11].

В нашей работе мы выявили более умеренное, однако значимое превышение содержания IL-12 в сыворотке крови у обследованных больных РШМ II стадии, составившее 269,5% по отношению к контрольной группе ($p < 0,01$).

ФНОα также оказывает противоопухолевое действие, в частности за счет активации клеточных механизмов иммунного ответа. Известны данные о повышении его содержания у больных со злокачественными новообразованиями [12, 13].

Выявлено значимое превышение концентрации данного цитокина, составившее 38,6% относительно обследованных здоровых лиц ($p < 0,05$).

Таким образом, при анализе содержания цитокинов нами было определено наличие активации цитокиновой регуляции для достижения противоопухолевого иммунного ответа. Однако показатели клеточного звена, определенные как в собственных исследованиях, так и в работах других авторов, свидетельствуют, что этот результат организмом не достигается, развивается существенный иммунный дисбаланс, связанный с недостаточностью эффекторных систем.

Содержание цитокинов у больных РШМ III стадии показано в табл. 2.

Концентрация IL-2 была снижена по сравнению с контрольной группой на 31,9% ($p < 0,01$). Одновременно у обследованных больных снижалось и содержание IL-6 — на 49,3% ($p < 0,01$). В то же время содержание противовоспалительного цитокина IL-10 не имело существенных различий между сравниваемыми группами. Наиболее резкое изменение было зарегистрировано по содержанию IL-12, которое превышало контрольный уровень в 6,9 раза ($p < 0,01$). Значимое превышение имелось также по содержанию ФНОα — на 79,5% ($p < 0,05$). Таким образом, и для больных РШМ III стадии был характерен выраженный дисбаланс содержания гуморальных иммунорегуляторных факторов в крови.

В ходе лечения в качестве группы сравнения выступали больные, подвергавшиеся только СЛТ. Как по

Таблица 3

Особенности содержания цитокинов в крови у больных РШМ ПВ стадии в зависимости от лечения

Показатель, пг/мл	Больные РШМ ПВ стадии			P_1	P_2	P_3
	СЛТ (n = 22)	СИТ (n = 19)	СИТ + АИТ (n = 19)			
IL-2	7,5±0,3	8,2±0,5	9,0±0,7	> 0,05	0,05	> 0,05
IL-6	3,9±0,3	4,9±0,4	8,4±0,5	0,05	< 0,01	< 0,01
IL-10	8,0±0,4	7,6±0,4	8,1±0,3	> 0,05	> 0,05	> 0,05
IL-12	6,2±0,4	6,1±0,3	4,7±0,2	> 0,05	< 0,05	< 0,05
ФНО α	7,9±0,5	9,5±0,5	9,1±0,6	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Примечание. Здесь и в табл. 4: p_1 — значимость различий группы СИТ+СЛТ с СЛТ; p_2 — значимость группы СИТ+СИТ+АИТ с СЛТ; p_3 — значимость различий показателей в группах СЛТ + СИТ и СЛТ + СИТ + АИТ.

отношению к контрольной группе, так и в динамике у данных пациенток с РШМ ПВ стадии (табл. 3) была выявлена большая выраженность нарушений содержания цитокинов в сыворотке по отношению к выявленным при исходном обследовании. В то же время в группе проведения СИТ отмечались статистически значимые различия с группой сравнения, в частности по содержанию ФНО α (выше на 20,3%; $p < 0,05$).

При проведении СИТ в сочетании с АИТ препаратами ронколейкин и флогэнзим было зарегистрировано значительное превышение содержания в крови IL-6 (на 115,4%; $p < 0,01$), а также относительное снижение IL-12 (на 24,2%; $p < 0,05$). Различия между группами в зависимости от проведения АИТ были статистически значимыми только в отношении концентрации IL-6 ($p < 0,01$). В целом показатели содержания интерлейкинов у обследованных больных, подвергавшихся иммунотерапии, были ближе к уровню баланса у здоровых лиц.

Аналогичные особенности были выявлены у больных РШМ III стадии (табл. 4).

Статистически значимыми были различия между группой сравнения (СЛТ) и комбинированной терапии, включающей СИТ в сочетании с АИТ.

Так, превышение содержания IL-6 составило 103,0% ($p < 0,01$), различия по содержанию IL-2 — 23,2%, а IL-12 — 50,5% (в сторону превышения); $p < 0,05$ в обоих случаях.

Тенденцию к нормализации имели также показатели содержания остальных исследованных цитокинов.

Таким образом, проведенный анализ содержания цитокинов в крови позволяет нам сделать заключение о наличии позитивного воздействия сочетания специфической и адоптивной иммунотерапии на эти показатели, что может служить основанием для его применения в практике.

Таблица 4

Особенности содержания цитокинов в крови у больных РШМ III стадии в ходе лечения

Показатель, пг/мл	Больные РШМ III стадии			P_1	P_2	P_3
	СЛТ (n = 20)	СИТ (n = 20)	СИТ + АИТ (n = 17)			
IL-2	6,9±0,3	7,3±0,3	8,5±0,6	> 0,05	< 0,05	> 0,05
IL-6	3,3±0,2	4,4±0,3	6,7±0,4	< 0,05	< 0,01	< 0,05
IL-10	7,0±0,4	6,9±0,4	7,4±0,5	> 0,05	> 0,05	> 0,05
IL-12	10,7±1,1	8,5±0,6	5,3±0,3	> 0,05	< 0,05	< 0,05
ФНО α	11,0±0,9	12,8±0,8	10,0±0,6	> 0,05	> 0,05	< 0,05

ЛИТЕРАТУРА

1. Franco E. L., Schlecht N. F., Saslow D. The epidemiology of cervical cancer. *Cancer J.* 2003; 9 (5): 348—59.
2. Морхов К. Ю. Химиолучевое лечение первично неоперабельного рака шейки матки. В кн.: Материалы IV Ежегодной онкологической конференции. М.; 2000; 1: 153—6.
3. Крамарева Н. Л., Сельков С. А., Ярмолинская М. И., Павлов О. В. Изучение роли цитокинов в патогенезе эндометриоза и выборе иммунокорректирующей терапии. *Медицинская иммунология.* 2002; 4 (2): 278—9.
4. Bermúdez-Morales V. H., Peralta-Zaragoza O., Madrid-Marina V. Gene therapy with cytokines against cervical cancer. *Salud Públ. Méx.* 2005; 47 (6): 458—68.
5. Dinarello C. A. The paradox of pro-inflammatory cytokines in cancer. *Cancer Metastas. Rev.* 2006; 25 (3): 307—13.
6. Сенников С. В., Силков А. Н. Методы определения цитокинов. Цитокины и воспаление. 2005; 4 (1): 22—27.
7. Sangro B., Melero I., Qian C., Prieto J. Gene therapy of cancer based on interleukin 12. *Curr. Gene Ther.* 2005; 5 (6): 573—81.
8. Smyth M. J., Cretney E., Kershaw M. H., Hayakawa Y. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy. *Immunol. Rev.* 2004; 202: 275—93.
9. Mazzolini G., Melero I., Prieto J. Role of interleukin-12 in cancer immunotherapy. *Medicina (B. Aires).* 2004; 64 (1): 77—8.
10. Wadler S., Levy D., Frederickson H. L. et al. Eastern Cooperative Oncology Group. A phase II trial of interleukin-12 in patients with advanced cervical cancer: clinical and immunologic correlates. Eastern Cooperative Oncology Group study E1E96. *Gynecol. Oncol.* 2004; 92 (3): 957—64.
11. Dobrzycka B., Terlikowski S. J., Garbowicz M. et al. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors in epithelial ovarian cancer. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2009; 47 (4): 609—13.
12. Bertazza L., Mocellin S. The dual role of tumor necrosis factor (TNF) in cancer biology. *Curr. Med. Chem.* 2010; 17 (29): 3337—52.
13. Diakowska D., Markocka-Mączka K., Grabowski K., Lewandowski A. Serum interleukin-12 and interleukin-18 levels in patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Exp. oncol.* 2006; 28 (4): 319—22.

REFERENCES

1. Franco E. L., Schlecht N. F., Saslow D. The epidemiology of cervical cancer. *Cancer J.* 2003; 9 (5): 348—59.
2. Morkhov K. Yu. Chemo-radiation treatment of primary non-operated cervical cancer. IV annual oncologic conference materials. Moscow 2000; 1: 153—6 (in Russian).
3. Kramareva N. L., Selkov S. A., Yarmolinskaya M. I., Pavlov O. V. The investigation of role of cytokines in pathogenesis of endometriosis and change of immunocorrection therapy. *Med. immunol.* 2002; 4 (2): 278—9 (in Russian).
4. Bermúdez-Morales V. H., Peralta-Zaragoza O., Madrid-Marina V. Gene therapy with cytokines against cervical cancer. *Salud Publica Mex.* 2005; 47 (6): 458—68.
5. Dinarello C. A. The paradox of pro-inflammatory cytokines in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25 (3): 307—13.
6. Sennikov S. V., Silkov A. N. Methods of cytokines investigation. *Cytokines inflam.* 2005; 4 (1): 22—7 (in Russian).
7. Sangro B., Melero I., Qian C., Prieto J. Gene therapy of cancer based on interleukin 12. *Curr. Gene Ther.* 2005; 5 (6): 573—81.
8. Smyth M. J., Cretney E., Kershaw M. H., Hayakawa Y. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy. *Immunol. Rev.* 2004; 202: 275—93.
9. Mazzolini G., Melero I., Prieto J. Role of interleukin-12 in cancer immunotherapy. *Medicina (B. Aires)* 2004; 64 (1): 77—8.
10. Wadler S., Levy D., Frederickson H. L. et al. Eastern Cooperative Oncology Group. A phase II trial of interleukin-12 in patients with advanced cervical cancer: clinical and immunologic correlates. Eastern Cooperative Oncology Group study E1E96. *Gynecol. Oncol.* 2004; 92 (3): 957—64.
11. Dobrzycka B., Terlikowski S. J., Garbowicz M. et al. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors in epithelial ovarian cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2009; 47 (4): 609—13.
12. Bertazza L., Mocellin S. The dual role of tumor necrosis factor (TNF) in cancer biology. *Curr. Med. Chem.* 2010; 17 (29): 3337—52.
13. Diakowska D., Markocka-Mączka K., Grabowski K., Lewandowski A. Serum interleukin-12 and interleukin-18 levels in patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Exp. oncol.* 2006; 28 (4): 319—322.

Поступила 15.10.12