

УДК 616.34/.35-006.6-085.277.3:612.017.1

## ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРАМИ И АНТИОКСИДАНТАМИ

<sup>1</sup>Кит О.И., <sup>1</sup>Набатова О.С., <sup>1</sup>Златник Е.Ю., <sup>2</sup>Павленко С.Г., <sup>1</sup>Нистратова О.В.

<sup>1</sup>ФБГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»

Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com;

<sup>2</sup>НОЧУ ВПО «Кубанский медицинский институт» Минобразования и науки России, Краснодар, e-mail: drpaulson@mail.ru

Изучали влияние неoadъювантной полихимиотерапии (ПХТ) оксалиплатином, 5-фторурацилом + лейковорином с применением галавита и мексидола в качестве терапии сопровождения на некоторые параметры иммунного статуса у 20 больных местно-распространенным раком прямой кишки. Полихимиотерапия проводилась с использованием методики лимфогенного застоя в нижней конечности. В сроки 10–15 дней после ПХТ все больные подверглись радикальным операциям. Применение предлагаемого метода лечения привело к позитивной динамике показателей Т- и НК-клеточных звеньев иммунитета у больных основной группы: отмечалось возрастание CD4+, CD8+, CD16+ лимфоцитов как по сравнению с исходными показателями, так и с выявленными у больных контрольной группы. У больных основной группы также наблюдалась положительная общеклиническая динамика, 3-х больных, ранее считавшихся неоперабельными, удалось прооперировать. Мы делаем заключение о целесообразности применения описанного метода для лечения больных раком прямой кишки.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, неoadъювантная полихимиотерапия, Т- и НК-клеточные звенья иммунитета

## DYNAMICS OF SOME PARAMETERS OF CELL-MEDIATED ULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER IN COMPLEX TREATMENT BY IMMUNOMODULATORS AND ANTIOXIDANTS

<sup>1</sup>Kit O.I., <sup>1</sup>Nabatova O.S., <sup>1</sup>Zlatnik E.Y., <sup>2</sup>Pavlenko S.G., <sup>1</sup>Nistratova O.V.

<sup>1</sup>Federal State budgetary institution «Rostov Scientific Research Institute of Oncology», Rostov-on-Don, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com;

<sup>2</sup>Private Educational Institution of Higher Education, Krasnodar, e-mail: drpaulson@mail.ru

We studied the effect of neoadjuvant polychemotherapy oxaliplatin with 5-fu + leucovorin with the use of Galavit and Mexidol as maintenance therapy on some parameters of immune status in 20 patients with locally advanced rectal cancer. Polychemotherapy was carried out using the methodology of lymphovenous stagnation in the lower limbs. In terms 10-15 days after polychemotherapy all patients underwent radical operations. The application of the proposed method of treatment resulted in positive dynamics of cellular immunity in patients of the main group: increase of CD4+, CD8+, CD16+lymphocytes in comparison with baseline, and with data of the control patients was noted. Patients of the main group also had positive clinical dynamics, 3 patients previously considered to be inoperable, became able to be operated. We make the conclusion about expediency of application of the described method for treatment of patients with rectal cancer.

**Keywords:** colorectal cancer, galavit, mexidol, neoadjuvant polychemotherapy, cell-mediated immunity

Достижения иммунологии за последние десятилетия позволили внедрить в клиническую практику новые подходы к лечению онкологических заболеваний [3; 8; 5; 10; 11]. Несмотря на то, что нет единого мнения о роли иммунотерапии в онкологии, тем не менее она уже прочно заняла свое место в лечении онкологических больных в качестве терапии сопровождения наряду с операциями, химио- и лучевым воздействием [4; 12].

С успехом применяется интерферонотерапия, вакциноотерапия, лечение IL-2, колониестимулирующими факторами и т.д. [7; 15; 14]. Варианты иммунотерапии в различных областях онкопатологии оказывают свое положительное влияние, что зачастую

достигается эмпирическим путем. В задачи иммунотерапии в онкологии входит:

1. Базисная терапия для получения противоопухолевого эффекта.

2. Снижение побочных эффектов от проводимой традиционной терапии (коррекция общетоксического действия, иммуносупрессии, миелосупрессии, антиоксидантный эффект).

3. Профилактика рецидивов опухоли.

Важной проблемой современной онкологии является оптимизация комплексного лечения колоректального рака (КРР) [13]. Лучевая терапия и оперативное вмешательство, считающиеся стандартом лечения местно-распространенных опухолей этой области, обладают выраженным

иммуносупрессивным влиянием и могут приводить к развитию различных, прежде всего гнойных, осложнений. Применение иммуномодуляторов и антиоксидантов в качестве терапии сопровождения у онкологических больных имеет длительную историю и не всегда сопровождается желаемым эффектом. Это побуждает к исследованию возможности применения новых иммуностропных препаратов для улучшения результатов комбинированного и комплексного лечения. В последние годы внимание многих авторов привлекает препарат Галавит, представляющий собой производное аминофталгидразида (5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевая соль). Как лекарственное средство он разрешен к применению с марта 1997 г. Аминофталгидразид был выбран в результате скрининга химических веществ, изменяющих функциональную активность макрофагов – ключевых клеток иммунной системы. Обнаружение выраженного модулирующего влияния на их функцию послужило началом широкомасштабных исследований, что привело к созданию нового лекарственного средства галавит и разработке оригинальных методов лечения ряда заболеваний [2].

Галавит обладает иммуномодулирующим и противовоспалительным действием. Его основные фармакологические эффекты, выявленные при проведении доклинических испытаний, обусловлены способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов. Препарат обратимо, на 4–6 ч, ингибирует избыточный синтез гиперактивными макрофагами фактора некроза опухолей (TNF), интерлейкина (IL-1) и других провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, определяющих степень и цикличность воспалительных реакций, а также выраженность интоксикации [9]. В то же время при иммунной недостаточности препарат стимулирует микробицидную функцию нейтрофильных гранулоцитов, усиливая фагоцитоз и повышая неспецифическую резистентность организма к инфекционным заболеваниям [1].

В ходе проведения доклинических испытаний было установлено, что галавит может регулировать синтез цитокинов макрофагами (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  и др.) и лимфоцитами (IL-2); стимулировать фагоцитарную активность нейтрофилов при исходном ее дефиците; дозозависимо влиять на синтез антител, повышать их аффинность; регулировать пролиферацию Т-лимфоцитов; стимулировать активность натуральных киллеров (NK) при их недостаточности. У препарата не зафиксировано тератогенного и токсического действия.

Клиническое применение галавита продемонстрировало его эффективность в качестве иммуномодулятора при широком спектре заболеваний, среди которых и ряд онкологических (рак пищевода, желудка). В литературе описан положительный опыт применения галавита и при колоректальном раке в комплексе с оперативным лечением, а также с лучевой терапией [6]. Сами авторы считают свои данные предварительными, хотя и обнадеживающими, указывая на необходимость продолжения исследований.

**Целью данной работы** является изучение динамики некоторых показателей клеточного иммунитета у больных местно-распространенным раком прямой кишки, подвергшихся комплексному лечению с применением неoadьювантной полихимиотерапии, иммуномодулятора галавита и антиоксиданта мексидола.

Проведено лечение 50 больных с диагностированным КРР (36 мужчин и 14 женщин). Возраст пациентов от 26 до 79 лет, большинство составляли пациенты старших возрастных групп (средний возраст –  $73,5 \pm 0,5$  лет). Локализация опухоли – прямая кишка и по системе TNM классифицировалась как местно-распространенная – T3-4N0-1M0. Через 10–15 дней после проведения неoadьювантной полихимиотерапии оксалиплатином и 5-фторурацилом+лейковорином с терапией сопровождения галавитом и мексидолом на фоне лимфовенозного застоя в нижней конечности были выполнены радикальные операции – передняя резекция (43 больных) и экстирпация прямой кишки (7 больных). Контрольная группа была представлена сопоставимыми по полу и возрасту 20 пациентами, которым были выполнены аналогичные радикальные вмешательства.

Введение оксалиплатина осуществлялось по стандартной методике из расчета  $85 \text{ мг/м}^2$ . 5-фторурацил+лейковорин вводили в малую подкожную вену голени при создании лимфовенозного застоя (давление  $40 \text{ мм рт.ст.}$ ) с помощью манжетки от аппарата Рива-Роччи. Подкожно вводили  $10 \text{ мг}$  химотрипсина на  $20 \text{ мл}$   $0,5\%$  новокаинового раствора. Через 5–7 мин поочередно с интервалом 10 минут медленно внутривенно вводили химиопрепараты, разовая доза которых составила для 5-фторурацила –  $425 \text{ мг/м}^2$ , для лейковорина –  $20 \text{ мг/м}^2$ ; а также  $0,1 \text{ г}$  галавита, растворенного на  $3\text{--}5 \text{ мл}$  воды для инъекций и  $5 \text{ мл}$   $5\%$  раствора мексидола внутримышечно. Манжетку оставляли в раздутом положении еще 2 часа. Процедуру введения химиопрепаратов осуществляли 1 раз в сутки. Дополнительно пациенты получали ежедневно

до 6 таблеток детралекса, а также подкожные инъекции фраксипарина в дозе 0,3 мл. Продолжительность курса ПХТ составляла 5 дней. Операцию выполняли на 10–15 сутки по окончании ПХТ.

Комбинация галавита и мексидола была выбрана на основании того, что именно иммуномодуляторы способны оказывать регуляторное действие на иммунные реакции, подавляя избыточные и усиливая их при недостаточности, а роль антиоксидантов несомненно доказана, как в лечении онкопатологии в целом, так и при колоректальном раке в частности. Препарат мексидол усиливает антиоксидантный эффект галавита. Таким образом, наши усилия были направлены на достижение противоопухолевого,

иммуномодулирующего и антиоксидантного эффектов, что позволило бы улучшить результат самой операции, а в некоторых случаях достигнуть переведения неоперабельных опухолей в разряд операбельных.

Оценку иммунного статуса проводили у 20 больных основной группы и у 20 больных контрольной группы до начала лечения и через 10–15 дней после его окончания. В периферической крови определяли процентное содержание Т-(CD2+), В-(CD20+), и NK (CD16+)-лимфоцитов, а также основных Т-клеточных субпопуляций (CD4+ и CD8+ лимфоцитов) с применением непрямого иммунофлюоресцентного теста. Результаты выражали в относительных (%) и абсолютных ( $\cdot 10^9/\text{л}$ ) значениях (таблица).

Показатели клеточного иммунитета у больных КРР при применении галавита и мексидола в комплексном лечении

Показатели	Группы больных			
	Основная $n = 20$		Контроль $n = 20$	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
CD2+, %	49,3 ± 0,42	53,3 ± 1,68*	47,6 ± 1,46	50,4 ± 1,59
CD2+, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,522 ± 0,045	0,9 ± 0,07* **	0,5 ± 0,06	0,65 ± 0,06
CD4+, %	27,0 ± 1,68	31,0 ± 0,84* **	26,5 ± 1,0	27,0 ± 1,69
CD4+, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,29 ± 0,03	0,528 ± 0,04* **	0,28 ± 0,04	0,35 ± 0,03
CD8+, %	26,0 ± 1,68	28,3 ± 2,94**	22,5 ± 1,25	20,7 ± 1,69
CD8+, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,28 ± 0,04	0,49 ± 0,04* **	0,24 ± 0,02	0,3 ± 0,025
CD16+, %	11,3 ± 1,68**	15,3 ± 2,52	17,3 ± 1,16	15,3 ± 1,48
CD16+, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,12 ± 0,015**	0,25 ± 0,018* **	0,19 ± 0,024	0,194 ± 0,02
CD20+, %	17,7 ± 1,26	17 ± 2,94	17,3 ± 0,66	18,3 ± 0,43
CD20+, $10^9/\text{л}$	0,19 ± 0,025	0,29 ± 0,03*	0,18 ± 0,02	0,24 ± 0,02*

Примечание. \* – статистически достоверные отличия от исходных данных ( $P < 0,05$ ); \*\* – статистически достоверные отличия от показателей контрольной группы.

После проведенного лечения у больных основной группы наблюдается позитивная иммунологическая динамика, что выражается в статистически значимом повышении ряда процентных и абсолютных показателей иммунного статуса. Так, у них отмечено возрастание процентного содержания Т-лимфоцитов за счет хелперно-индукторной субпопуляции (CD4+). Относительные уровни цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), а также NK-(CD16+) и В-клеток не меняются по сравнению с исходными, а в абсолютном исчислении наблюдается их статистически достоверное повышение. В группе сравнения изменений исследуемых параметров, выраженных в процентном исчислении, не обнаружено, отмечено повышение абсолютного содержания В-лимфоцитов.

Сопоставление показателей иммунного статуса больных обеих групп выявило, что процентные уровни CD4+ и CD8+ клеток при применении галавита и мексидола,

были статистически значимо выше, чем при стандартном лечении. Абсолютные значения показателей Т-клеточного звена продемонстрировали статистически достоверное превышение в основной группе над контрольной всех исследованных параметров: CD2+, CD4+, CD8+ клеток, а уровень В-лимфоцитов находился на уровне контроля. Процентное и абсолютное содержание NK-клеток было исходно ниже у больных основной группы, а после лечения его абсолютное содержание статистически достоверно возросло у больных основной группы в отличие от контрольной.

Итак, применение в комплексном лечении препаратов галавита и мексидола способствует благоприятной динамике показателей клеточного иммунитета у больных КРР.

В процессе лечения больных КРР также был выявлен положительный общеклинический эффект от проводимой терапии – больные отмечали нормализацию общего

состояния, уменьшение болей, снижение температуры тела до нормальных величин, повышение аппетита и урежение стула. При пальцевом исследовании опухоль прямой кишки уменьшалась в объеме до трети от исходного. Отмечено уменьшение отека тканей, расположенных рядом с опухолью, что позволяло проводить операцию в лучших для хирурга условиях: увеличивалась интраоперационная подвижность опухоли, четче была видна граница здоровых тканей. В результате проведенной полихимиотерапии у 3 больных, ранее считавшихся неоперабельными, размеры опухоли уменьшились, и опухоль стала подвижной, что позволило выполнить радикальную экстирпацию прямой кишки.

Полученные нами результаты находятся в соответствии с данными авторов [В.С. Ананьев и соавт., 2006], применявших галавит у больных КРР при операции и лучевой терапии и отметивших положительную динамику иммунного статуса, преимущественно по Т-хелперному звену, наряду с уменьшением количества осложнений в послеоперационном периоде.

Итак, применение синтетического иммуномодулятора галавита и антиоксиданта мексидола в неoadъювантной полихимиотерапии приводит к благоприятному изменению показателей клеточного иммунитета у больных КРР и оказывает выраженные положительные общеклинические эффекты, оптимизирующие комплексное лечение рассматриваемой группы больных с тяжелой онкологической патологией. Таким образом, можно сделать заключение о целесообразности применения неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной иммуномодулятором галавит и антиоксидантом мексидол в комплексном лечении больных КРР.

#### Список литературы

1. Влияние галавита на уровень хемиллюминесцентной активности мононуклеаров и гранулоцитов онкологических больных / В.Н. Петров [и соавт.] // Международный медицинский журнал. – 2001. – № 5. – С. 417–420.
2. Галавит – новое противовоспалительное и иммуномодулирующее лекарственное средство // Иммунореабилитация и реабилитация в медицине: тез. докл. 5 Междунар. конгр., Тенерифе, 1–7 мая, 1999 / М.Т. Абидов [и соавт.] // Int. J. Immunorehabil. – 1999. – № 12. – С. 8.
3. Галавит в экспериментальной терапии опухолей // Иммунореабилитация и реабилитация в медицине: тез. докл. 5 Междунар. конгр., Тенерифе, 1–7 мая, 1999 / А.Ф. Цыб [и соавт.] // Int. J. Immunorehabil. – 1999. – № 12. – С. 105.
4. Генс Г.П. Применение иммуномодулятора галавит на фоне химиотерапии у больных диссеминированным раком молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – 24 с.
5. Изменения показателей иммунитета у больных немелкоклеточным раком легкого II–III стадии в послеоперационном периоде при применении иммуномодулятора галавит / Д.А. Платонов [и соавт.] // Радиология 2005: материалы 7 Всероссийского научного форума, Москва, 31 мая–3 июня, 2005. – М., 2005. – С. 342–343.
6. Иммунологическая коррекция препаратом Галавит больных колоректальным раком ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва / В.С. Ананьев [и соавт.] // Росс. биотер. журн. 2006. – т. 2. – С. 68–72.

7. Иммунотропное лечение больных с хирургическими заболеваниями желудочно-кишечного тракта / В.Х. Маремкулов [и соавт.] // Хирургия. – 2005. – № 2. – С. 21–24.

8. Мирошник О.А. Возможности иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении онкологических больных // Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы: сб. науч. тр. – Омск: Омская медицинская академия, 2002. – С. 21–32.
9. Нагоев Б.С., Князев Р.П., Лютов Р.В. Галавит в терапии острых кишечных инфекций // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – т. 127, приложение № 2. – С. 18–21.
10. Ciombor K.K., Berlin J., Chan E. Afibercept // Clin Cancer Res. – 2013 Apr 15. – № 19(8). – P. 1920–5. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2911. Epub 2013 Feb 26.
11. Clinical effects of Adjuvant Active Specific Immunotherapy differ between Patients with Microsatellite Stable and Microsatellite Instable Colon Cancer / V.A. De Weger [et al.] // Clin Cancer Res. – 2011 Dec 12.
12. Development of therapeutic antibodies for gastric and colorectal cancers / T.T. Zhao [et al.] // Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2012. – Vol. 41(3). – P. 345–352.
13. Dillman R. O. Cancer immunotherapy // Cancer Biother Radiofarm. – 2011. – Vol. 26(1). – P. 1–64.
14. Epigenetic modulation to enable antigen-specific T-cell therapy of colorectal cancer / J. Chou [et al.] // J. Immunother. – 2012. – Vol. 35(2). – P. 131–141.
15. Snook A.E., Magee M.S., Waldman S.A. GUCY2C-targeted cancer immunotherapy: past, present and future // Immunol. Res. – 2011. – Vol. 51(2–3). – P. 161–169.

#### References

1. Petrov V.N. Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal. 2001, no. 5, pp. 417–420.
2. Abidov M.T. [et al.] 5-y Mezhdunarodnyy kongress «Immunoreabilitatsiya i reabilitatsiya v medicine», Tenerife, 1-7 may, 1999. Int. J. Immunorehabil. 1999, no. 12, pp. 8.
3. Tsyb A.F. [et al.] 5-y Mezhdunarodnyy kongress «Immunoreabilitatsiya i reabilitatsiya v medicine», Tenerife, 1-7 may, 1999. Int. J. Immunorehabil. 1999, no. 12, pp. 105.
4. Gens G.P. Avtoref. Dis. Kand. Med. Nauk. Moskva, 2002. 24 p.
5. Platonov D.A. [et al.]. Materialy 7 Vserossiyskogo nauchnogo foruma «Radiologiya 2005». Moskva, 31 maya-3 iunya, 2005. M., 2005. pp. 342–343.
6. Anan'ev V.S. [et al.]. Ross. Bioter. Zhurnal. 2006. T.2, pp. 68–72.
7. Maremkulov V.Kh. [et al.]. Khirurgiya. 2005. no. 2, pp. 21–24.
8. Miroshnik O.A. Sb. Nauch. Tr. Omsk: Omskaya meditsinskaya akademiya. 2002. pp. 21–32.
9. Nagoev B.S., Knyazev R.P., Lutov R.V. Bull. Eksperim. Boil. I med. 1999, t. 127, prilozhenie no. 2, pp. 18–21.
10. Ciombor K.K., Berlin J., Chan E. Afibercept // Clin Cancer Res. – 2013 Apr 15. – № 19(8). – P. 1920–5. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2911. Epub 2013 Feb 26.
11. Clinical effects of Adjuvant Active Specific Immunotherapy differ between Patients with Microsatellite Stable and Microsatellite Instable Colon Cancer / V.A. De Weger [et al.] // Clin Cancer Res. 2011 Dec 12.
12. Development of therapeutic antibodies for gastric and colorectal cancers / T.T. Zhao [et al.] // Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2012. Vol. 41(3). pp. 345–352.
13. Dillman R. O. Cancer immunotherapy // Cancer Biother Radiofarm. 2011. Vol. 26(1). pp. 1–64.
14. Epigenetic modulation to enable antigen-specific T-cell therapy of colorectal cancer / J. Chou [et al.] // J. Immunother. 2012. Vol. 35(2). pp. 131–141.
15. Snook A.E., Magee M.S., Waldman S.A. GUCY2C-targeted cancer immunotherapy: past, present and future // Immunol. Res. 2011. Vol. 51(2–3). pp. 161–169.

#### Рецензенты:

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар;  
Кульчиев А.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней № 3 ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, РСО–Алания, г. Владикавказ.  
Работа поступила в редакцию 21.05.2014.