

УДК 616:612.017.1

А. Е. ГОНЧАРОВ¹, Л. П. ТИТОВ¹, С. В. КОШЕЛЕВ², Л. А. ПУТЫРСКИЙ²

ИММУННЫЙ СТАТУС И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ПАЦИЕНТОК, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь,

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 13.03.2012)

Введение. Проблема профилактики и лечения онкологических заболеваний, занимающих по причине смертности второе место в мире, затрагивает значительное количество населения. Данные ВОЗ демонстрируют, что в 2008 г. зарегистрированная смертность от рака составила 7,6 млн случаев в год с тенденцией к увеличению в ближайшие десятилетия [1]. Рак молочной железы (РМЖ) – самое распространенное злокачественное новообразование у женщин индустриально развитых стран. В Республике Беларусь рак этой локализации у женщин занимает первое место, а в структуре смертности – второе. В 2008 г. заболеваемость РМЖ составила 70,3 случая на 100 000 населения [2].

В настоящее время не вызывает сомнений важность и необходимость применения хирургического, лучевого и химиотерапевтического лечения как классической триады в терапии рака. Однако даже у пациенток на ранних клинических стадиях злокачественного процесса стандартная жесткая схема традиционного лечения не может полностью решить одну из главных проблем онкологии – предотвращение рецидивов болезни [3, 4].

Роль иммунной системы индивидуума в предрасположенности к возникновению атипичных клеток и контроле злокачественного роста и метастазирования чрезвычайно велика [5]. Попытки стимуляции иммунной системы для лечения рака предпринимались неоднократно. Однако лишь в последнее десятилетие благодаря открытию молекулярных основ иммуномодулирующих воздействий удалось добиться определенных успехов в восстановлении и поддержании на высоком уровне специфической противоопухолевой иммунной защиты [6]. Во многих странах мира проходят клинические испытания способа иммунотерапии рака, основанного на использовании дендритных клеток (ДК) и антигенспецифических Т-лимфоцитов. Так, в настоящее время проходят клинические испытания метода иммунотерапии пациенток с РМЖ с использованием ДК, праймированных различными антигенами [7–10]. Результаты большинства исследований обнадеживающие: показана безопасность применения ДК и хороший клинический эффект. Убедительные доказательства безопасности и эффективности лечения рака простаты с использованием ДК, показанные на 512 пациентах, позволили Управлению по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США в 2010 г. одобрить использование данного метода терапии для широкого применения [11].

В Республике Беларусь научные исследования с целью использования аутологичных ДК для иммунотерапии хронических инфекций и рака начаты в 2005 г. [12–18]. В настоящее время на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии в рамках задания ГНТП проводятся клинические испытания «Метода противорецидивной аутоиммунотерапии пациентов с первичным агрессивным раком молочной железы с использованием аутологичных дендритных клеток, праймированных опухоли-ассоциированными антигенами», разработанного совместными усилиями сотрудников РНПЦ эпидемиологии и микробиологии и РНПЦ онкологии и медицинской

радиологии. Программа испытаний утверждена решением Комиссии по способам профилактики, диагностики, лечения, реабилитации и организационным формам работы Министерства здравоохранения РБ (протокол от 6 мая 2010 г.).

Цель работы – оценка показателей иммунного статуса и опухолеспецифического иммунного ответа у пациенток с РМЖ, включенных в клинические испытания нового метода адьювантной иммунотерапии РМЖ.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили образцы периферической крови 28 пациенток с РМЖ I–II клинической стадии (РНПЦ онкологии и медицинской радиологии). Группа здоровых лиц включала 24 человека (сотрудники РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). Иммуногистохимический статус пациенток характеризовался высокой экспрессией мутантного p53-протеина и маркера пролиферации Ki-67.

Исследовали следующие субпопуляции лимфоцитов периферической крови: CD3⁺ Т-лимфоциты, TCRαβ⁺ Т-лимфоциты, TCRγδ⁺ Т-лимфоциты, CD3⁺CD4⁺ Т-хелперы, CD3⁺CD8⁺ Т-цитотоксические лимфоциты, CD4⁺CD25^{high} Т-регуляторные клетки, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ естественные киллеры, CD3⁺CD45R0⁺ Т-клетки памяти, CD3⁺HLA-DR⁺ Т-лимфоциты активированные, CD19⁺ В-лимфоциты, CD19⁺CD5⁺ В1-лимфоциты, CD19⁺CD5⁻CD27⁺ В-лимфоциты памяти, CD3⁺CD69⁺ Т-лимфоциты активированные, CD28⁺ Т-лимфоциты [19]. Для определения иммунофенотипа лимфоцитов венозную гепаринизированную кровь в количестве 50 мкл инкубировали с соответствующими моноклональными антителами (CD3, CD4, CD5, CD8, CD16, CD19, CD25, CD27, CD28, CD45, CD45R0, CD56, CD69, HLA-DR, TRCαβ и TRCγδ) производства Beckman-Coulter, Vестon-Dickinson и Invitrogen (США) в течение 15 мин при температуре 4 °С. Эритроциты лизировали раствором хлорида аммония на протяжении 15 мин при температуре 18–25 °С, затем осаждали путем центрифугирования, удаляли супернатант и суспендировали в DPBS [19, 20].

Определение внутриклеточных цитокинов и антигенспецифических клеток. К крови в количестве 500 мкл добавляли: 1) DPBS; 2) форбол-12-миристат-13-ацетат (25 нг/мл) и иономицин (1 мкг/мл); 3) синтетические короткоцепочечные пептиды мутантного протеина p53: p53_{65–73} RMPEAAPPV, p53_{264–272} LLGRNSFEV, p53_{139–147} KLCPVQLWV, p53_{103–111} YLGSYGFRL в количестве 10 мкг/мл каждого, доводили объем средой RPMI-1640 до 1 мл и культивировали 2 ч при температуре 37 °С. Затем добавляли монензин (10 мкг/мл) и дополнительно инкубировали в течение 4 ч. Активированную кровь в количестве 100 мкл инкубировали с моноклональными антителами к CD3 15 мин при температуре 4 °С. Эритроциты лизировали 15 мин раствором хлорида аммония, а затем осаждали путем центрифугирования и удаляли супернатант. Клетки фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида 10 мин, объем клеточной взвеси доводили фосфатным буфером до 3 мл и центрифугировали пробирки для осаждения клеток. Удалив супернатант, клетки ресуспендировали в 0,1%-ном растворе сапонина для пермеабиллизации и инкубировали 15 мин, после чего отмывали в 3 мл DPBS. Надосадочную жидкость удаляли, клетки инкубировали с моноклональными антителами к внутриклеточным цитокинам (интерферон-(ИНФ)-γ, интерлейкин(ИЛ)-17А) и соответствующими изотипическими контролями 30 мин при 4 °С. По истечении времени инкубации клетки отмывали от несвязавшихся антител, суспендировали в DPBS и исследовали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (BD, США) [21–25]. Данные анализировали при помощи программы Weasel, версия 3 (WENI, Австралия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica, версия 8 (StatSoft, США). Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й процентилей. Нормальность распределения величин оценивали с использованием *W*-критерия Шапиро–Вилка. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения двух независимых выборок использовали *U*-критерий Манна–Уитни. Для определения зависимостей между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмана (*R*). В качестве критерия достоверности различий между показателями принимали уровень значимости $P < 0,05$ [26, 27].

Результаты и их обсуждение. С целью контроля иммунологической эффективности проводимой терапии ДК исследовали показатели иммунного статуса у пациенток с РМЖ до начала и в процессе иммунотерапии.

Лейкопения (число лейкоцитов ниже $4 \cdot 10^6/\text{мл}$ [28–31]) была выявлена у 3 ($10,7 \pm 5,8\%$) из 28 пациенток с РМЖ. Несмотря на то что содержание лейкоцитов у остальных пациентов было выше минимальной границы нормальных показателей, число лейкоцитов было статистически достоверно снижено в группе пациенток с РМЖ по сравнению с контролем (РМЖ – $4,8 (4,3–6,1) \cdot 10^6/\text{мл}$, контроль – $6,5 (5,3–6,9) \cdot 10^6/\text{мл}$; $P = 0,0003$). Показатели относительного числа лимфоцитов у пациенток исследованных групп не имели достоверных различий (РМЖ – $30,0 (23,0–35,0)\%$, контроль – $33,3 (24,3–39,2)\%$; $P = 0,12$), в то время как абсолютное число лимфоцитов было ниже (РМЖ – $1,4 (1,1–1,7) \cdot 10^6/\text{мл}$, контроль – $2,0 (1,4–2,5) \cdot 10^6/\text{мл}$; $P = 0,003$). Указанные выше изменения в гемограмме показали, что, несмотря на отсутствие явных признаков вторичного иммунодефицита, у пациенток наблюдалось угнетение клеточных резервов иммунной системы.

Известно, что CD3^+ Т-лимфоциты по типу Т-клеточного рецептора разделяют на $\text{TCR}\alpha\beta^+$ клетки, основную субпопуляцию Т-лимфоцитов, и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ лимфоциты, связывающие суперантигены без обязательной презентации вместе с молекулами ГКС [10, 22]. У пациенток с РМЖ относительное число как $\text{TCR}\alpha\beta^+$, так и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ клеток было сравнимо с таковым в группе здоровых лиц (табл. 1). Абсолютное же содержание CD3^+ Т-лимфоцитов и их $\text{TCR}\alpha\beta^+$ и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ субпопуляций было достоверно снижено.

Т а б л и ц а 1. Содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций у пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %				
	Т-клетки, CD3^+	$\text{CD3}^+\text{TCR}\alpha\beta^+$	$\text{CD3}^+\text{TCR}\gamma\delta^+$	Т-хелперы, $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$	Т-цитотокс, $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$
РМЖ ($n = 28$)	71,1 (65,5–76,1)	67,0 (62,8–70,9)	3,4 (2,2–5,2)	43,0 (34,8–45,1)	30,0 (25,2–33,4)
Контроль ($n = 24$)	72,7 (68,4–80,1)	68,0 (63,6–74,5)	5,4 (2,3–6,9)	46,3 (42,5–53,8)	27,1 (22,4–33,7)
<i>P</i>	0,18	0,27	0,19	0,004	0,14
Группа	Субпопуляция, $10^6/\text{мл}$				
	Т-клетки, CD3^+	$\text{CD3}^+\text{TCR}\alpha\beta^+$	$\text{CD3}^+\text{TCR}\gamma\delta^+$	Т-хелперы, $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$	Т-цитотокс, $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$
РМЖ ($n = 28$)	0,99 (0,82–1,17)	0,92 (0,78–1,1)	0,04 (0,03–0,08)	0,55 (0,49–0,68)	0,45 (0,32–0,53)
Контроль ($n = 24$)	1,43 (1,05–1,83)	1,29 (0,99–1,68)	0,1 (0,04–0,15)	0,95 (0,73–1,19)	0,52 (0,42–0,7)
<i>P</i>	0,0001	0,0001	0,022	0,00001	0,07

У 64% пациенток с РМЖ было снижено абсолютное число CD4^+ Т-хелперов, а показатели, характеризующие количественное содержание CD8^+ цитотоксических лимфоцитов, находились в пределах физиологической нормы [19].

Снижение абсолютного числа лимфоцитов, безусловно, отражает существующие отклонения в нормальном функционировании иммунной системы. Однако для полноценного иммунного ответа не менее важным являются стабильные соотношения между субпопуляциями реагирующих на опухоль клеток иммунной системы. Расчет индексов между популяциями и субпопуляциями позволяет получить новую информацию о функциональном состоянии иммунокомпетентных клеток и дает возможность выявить повреждения молекулярно-клеточных механизмов функционирования системы иммунитета [32, 33].

Соотношение $\text{CD4}/\text{CD8}$ клеток является одним из традиционно используемых показателей, который позволяет охарактеризовать состояние клеточного иммунитета. Данное соотношение было статистически достоверно снижено у пациенток с РМЖ по сравнению с аналогичным показателем у здоровых лиц (РМЖ – $1,4 (1,1–1,7)$, здоровые лица – $1,8 (1,5–2,1)$; $P = 0,004$), что указывает на дисбаланс Т-системы иммунитета. Расчет соотношения $\text{TCR}\alpha\beta^+$ и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ CD3^+ лимфоцитов позволил установить отсутствие достоверных различий между данными показателями у пациенток исследованных групп (РМЖ – $19,7 (12,7–31,1)$, контроль – $12,5 (9,9–31,0)$; $P = 0,22$).

У пациенток с РМЖ выявлено достоверное увеличение содержания естественных киллерных (ЕК)-клеток (РМЖ – $17,4 (11,3–23,0)\%$, контроль – $13,1 (9,0–16,6)\%$; $P = 0,008$). Соотношение Т-лимфоциты/ЕК-клетки было снижено у пациенток с РМЖ (РМЖ – $4,1 (2,9–6,7)$, контроль – $5,7 (4,2–8,7)$; $P = 0,01$), что указывает на увеличение доли ЕК-клеток среди лимфоцитов и их вовлеченность в противоопухолевый иммунитет.

Одной из важнейших молекул, экспрессированных на поверхности Т-лимфоцитов, является костимуляторная молекула CD28. Она является лигандом для молекул CD80 и CD86 на поверхности антигенпредставляющих клеток и наряду с ГКС II класса, Т-клеточным рецептором и рядом адгезивных молекул формирует иммунологический синапс, обеспечивая костимуляцию [31]. Снижение экспрессии молекулы CD28 и, следовательно, презентация антигена без сопутствующего костимуляторного сигнала приводит к формированию анергии Т-лимфоцитов [33]. Не удивительно, что содержание CD28⁺CD3⁺ лимфоцитов было снижено у пациенток с РМЖ, что, вероятно, отражает уровень процессов иммуносупрессии (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Показатели Т-клеточного звена иммунитета пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %				
	Активированные Т-клетки CD3 ⁺ HLA ⁺	Активированные Т-клетки (ранняя активация) CD3 ⁺ CD69 ⁺	Т-регуляторные клетки CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD28 ⁺ Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD28 ⁺	Т-клетки памяти CD3 ⁺ CD45R0 ⁺
РМЖ (n = 28)	7,2 (4,8–12,7)	5,1 (3,3–7,1)	4,5 (2,9–5,6)	48,8 (43,3–55,0)	50,2 (41,2–53,7)
Контроль (n = 24)	5,8 (4,8–7,8)	4,7 (3,7–7,4)	4,0 (3,1–5,0)	59,1 (51,8–61,4)	45,5 (41,3–48,7)
<i>P</i>	0,35	0,97	0,21	0,003	0,08
Группа	Субпопуляция, 10 ⁶ /мл				
	Активированные Т-клетки CD3 ⁺ HLA ⁺	Активированные Т-клетки (ранняя активация) CD3 ⁺ CD69 ⁺	Т-регуляторные клетки CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD28 ⁺ Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD28 ⁺	Т-клетки памяти CD3 ⁺ CD45R0 ⁺
РМЖ (n = 28)	0,11 (0,07–0,16)	0,07 (0,05–0,11)	0,06 (0,04–0,08)	0,66 (0,55–0,89)	0,61 (0,53–0,82)
Контроль (n = 24)	0,1 (0,08–0,2)	0,12 (0,04–0,17)	0,09 (0,04–0,12)	1,13 (0,78–1,43)	0,87 (0,66–1,08)
<i>P</i>	0,34	0,08	0,13	0,00004	0,01

Количественные показатели, характеризующие состояние активированных и регуляторных Т-клеток, у пациенток с РМЖ и у здоровых лиц не имели существенных различий. В связи с этим был проведен расчет соотношений между популяциями этих клеток, которые в ряде случаев позволяют более точно выявить их долю среди общего пула Т-лимфоцитов. У пациенток с РМЖ выявлено увеличение соотношения Т-лимфоциты/Т-лимфоциты памяти (РМЖ – 1,6 (1,5–1,8), контроль – 1,4 (1,4–1,7); *P* = 0,03), что указывает на снижение содержания у них Т-клеток памяти. В то же время соотношения Т-клетки/Т-клетки регуляторные (РМЖ – 16,1 (11,5–23,4), контроль – 17,9 (14,9–26,5); *P* = 0,14) и Т-клетки/Т-клетки активированные (РМЖ – 9,6 (5,4–14,7), контроль – 12,8 (8,9–15,2); *P* = 0,13) у пациенток исследованных групп не имели достоверных различий. Снижение содержания Т-клеток памяти, возможно, обусловлено формированием анергии, на что также указывает снижение пула CD28⁺ лимфоцитов.

В-лимфоциты, как известно, разделяют на две основные популяции: CD19⁺CD5⁺ В1-лимфоциты и CD19⁺CD5⁻ В2-лимфоциты. В1-лимфоциты, продуцирующие «естественные» низкоаффинные полиреактивные антитела, не формируют клеток памяти. Показана ассоциация В1-лимфоцитов с продукцией аутоантител [19, 34]. У пациенток с РМЖ выявлено достоверное уменьшение относительного и абсолютного количества В-лимфоцитов в периферической крови (табл. 3).

Относительное количество В1-лимфоцитов достоверно не отличалось от аналогичного показателя у здоровых лиц, а абсолютное число В1-клеток было снижено у пациенток с РМЖ. В результате у больных РМЖ нарушается соотношение между В2- и В1-клетками (больные РМЖ –

Т а б л и ц а 3. Содержание субпопуляций В-лимфоцитов у пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %		
	В-клетки, CD19 ⁺	В1-клетки, CD19 ⁺ CD5 ⁺	В-клетки памяти CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺
РМЖ (n = 28)	8,8 (4,6–11,0)	2,7 (1,6–3,4)	1,1 (0,6–1,6)
Контроль (n = 24)	11,4 (8,4–13,3)	2,7 (2,1–3,3)	0,9 (0,5–1,3)
<i>P</i>	0,02	0,95	0,16
Группа	Субпопуляция, 10 ⁶ /мл		
	В-клетки, CD19 ⁺	В1-клетки, CD19 ⁺ CD5 ⁺	В-клетки памяти CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺
РМЖ (n = 28)	0,12 (0,08–0,16)	0,03 (0,02–0,05)	0,015 (0,009–0,026)
Контроль (n = 24)	0,21 (0,14–0,30)	0,05 (0,04–0,07)	0,022 (0,006–0,028)
<i>P</i>	0,0002	0,01	0,53

2,2 (1,7–2,7), контроль – 3,1 (2,4–4,1); $P = 0,01$), преимущественно за счет снижения числа В1-клеток. Несмотря на уменьшение числа всех В-лимфоцитов, у больных РМЖ не выявлено уменьшения пула В-клеток памяти, хотя соотношение между этими популяциями (В-клетки/В-клетки памяти) существенно менялось (пациентки с РМЖ – 7,8 (4,8–11,0), контроль – 14,3 (7,1–24,3); $P = 0,001$).

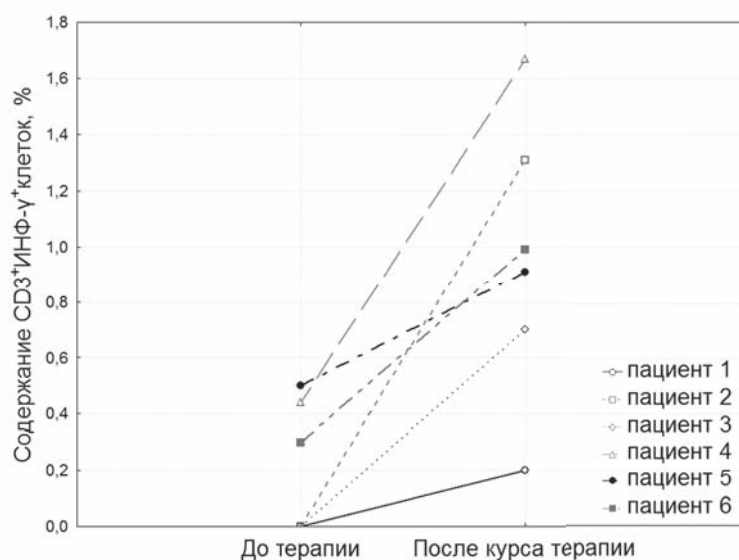
Учитывая, что основные иммунофенотипические показатели пациенток с РМЖ находятся в пределах физиологической нормы, более важным представляется анализ иммунофенотипа до и после проведенной иммунотерапии, что позволит выявить направленность реагирования иммунной системы на введение ДК.

Относительное количество лимфоцитов, продуцирующих те или иные цитокины в ответ на стимуляцию антигенами или неспецифическими активаторами, не только отражает количественное распределение субпопуляций клеток (ИФН- γ^+ Th1, ИЛ-17 $^+$ Th17), но и дает представление об их функции. Установлено, что у пациенток с РМЖ значительно увеличен пул ИЛ-17 $^+$ лимфоцитов (РМЖ – 0,53 (0,20–0,71)%, контроль – 0,1 (0,05–0,17)%; $P = 0,0002$), что указывает на дисбаланс провоспалительных цитокинов у больных РМЖ. В то же время число CD3 $^+$ ИФН- γ^+ у пациенток с РМЖ не отличалось достоверно от такового у здоровых лиц (РМЖ – 11,1 (8,0–15,1)%, контроль – 7,1 (5,1–14,0)%; $P = 0,157$).

Как показали исследования разных авторов, для оценки динамики формирования специфического иммунного ответа на терапию ДК можно использовать следующие методы: кожные тесты с антигеном, применяемым для праймирования ДК; определение антигенспецифических Т-лимфоцитов в крови при помощи тетрамерных антител; определение цитокин-продуцирующих клеток после сокультивирования с антигеном и последующей детекцией внутриклеточных цитокинов (в основном ИФН- γ) методом проточной цитометрии или при помощи метода ELISPOT; выявление цитотоксического эффекта CD8 $^+$ Т-лимфоцитов на клетки-мишени, экспрессирующие антиген; определение пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на антиген до и после терапии; исследование экспрессии генов цитокинов [35, 36]. Предпочтительным методом является выявление Т-лимфоцитов, отвечающих продукцией цитокинов Th1-спектра в ответ на стимуляцию антигенами [21–25].

Оценка специфического иммунного ответа показала, что у 21 (75,0 \pm 8,2%) из 28 пациенток выявлены в крови антигенспецифические Т-лимфоциты. Их количество сильно варьировалось, составляя в среднем 0,75 (0,44–1,18)%.

Получены предварительные результаты исследования динамики накопления антигенспецифических Т-клеток до и после проведения иммунотерапии у 6 пациенток, прошедших полный курс иммунотерапии. Число антигенспецифических Т-лимфоцитов составило 0,15 (0,0–0,44)%



Динамика содержания антигенспецифических Т-клеток в процессе иммунотерапии дендритными клетками

в начале лечения и 0,95 (0,7–1,31)% после курса иммунотерапии ($P = 0,028$) (см. рисунок). Существенный прирост числа антигенспецифических клеток выявлен у 5 ($83,3 \pm 15,2\%$) из 6 пациенток, что является благоприятным прогностическим признаком. У одной пациентки с изначально неопределяемым количеством антигенспецифических клеток число последних практически не увеличилось в течение курса иммунотерапии и составило 0,2%, что расценивается как неблагоприятный прогностический признак и требует дополнительного курса стимуляции ДК.

Схожие результаты, указывающие на увеличение содержания антигенспецифических клеток в процессе иммунотерапии ДК, были получены и в других исследованиях [37–39].

Заключение. Иммунный статус пациенток с РМЖ характеризуется снижением абсолютного числа Т- и В-лимфоцитов, CD28⁺ Т-лимфоцитов и наличием дисбаланса в соотношении популяций Т- и В-лимфоцитов, в частности В1/В2-клеток и Т- и В-лимфоцитов памяти. Тем не менее, отсутствие явных признаков вторичного иммунодефицита у обследованных пациенток, безусловно, является благоприятным прогностическим фактором, указывающим на успешность проведения клеточной иммунотерапии у данной категории пациенток и высокую вероятность развития клеточного ответа достаточной силы на стимуляцию ДК. Оценка показателей специфического иммунного ответа показала, что у $75,0 \pm 8,2\%$ пациенток выявлены в крови антигенспецифические лимфоциты. При этом установлено увеличение числа антигенспецифических лимфоцитов в периферической крови у $83,3 \pm 15,2\%$ пациенток в процессе иммунотерапии, что свидетельствует о формировании иммунного ответа. Полученные данные позволяют надеяться на клиническую эффективность применения данного метода терапии РМЖ.

Литература

1. Информационный бюллетень ВОЗ. 2012. № 297.
2. Савицкий С. Э., Бобко Ю. И., Бобко И. Н. и др. // Онкол. журн. 2010. Т. 4, № 4. С. 35–39.
3. Goldhirsch A., Wood W. C., Gelber R. D. et al. // Ann. Oncol. 2007. Vol. 18, N 7. P. 1133–1144.
4. Goldhirsch A., Coates A. S., Gelber R. D. et al. // Ann. Oncol. 2006. Vol. 17. P. 1772–1776.
5. Титов Л. П. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2002. № 2. С. 103–116.
6. Palucka K., Ueno H., Banchereau J. // J. Immunol. 2011. Vol. 186. P. 1325–1331.
7. Dees E. C., McKinnon K. P., Kuhns J. J. et al. // Cancer Immunol. Immunother. 2004. Vol. 53. P. 777–785.
8. Svane I. M., Pedersen A. E., Johansen J. S. et al. // Cancer Immunol. Immunother. 2007. Vol. 56. P. 1485–1499.
9. Czerniecki B. J., Koski G. K., Koldovsky U. et al. // Cancer Res. 2007. Vol. 67, N 4. P. 1842–1852.
10. Cellular Immunotherapy Study with Autologous Dendritic Cells Loaded with Oncofetal Antigen/iLRP in Patients with Metastatic Breast Cancer // U. S. National Institutes of Health Clin. Trials. 2009.
11. Cheever M. A., Higano C. S. // Clin. Cancer Res. 2011. Vol. 17. P. 3520.
12. Гончаров А. Е., Титов Л. П., Янович О. О. // Мед. иммунология. 2006. Т. 8, № 2–3. С. 131–132.
13. Гончаров А. Е., Титов Л. П., Жмуровская Л. С. // Здоровоохранение. 2007. № 11. С. 28–32.
14. Гончаров А. Е., Титов Л. П. // Докл. НАН Беларусі. 2008. Т. 52, № 1. С. 92–96.
15. Титов Л. П., Гончаров А. Е., Путырский Л. А. и др. // Здоровоохранение. 2010. Т. 10. С. 52–55.
16. Titov L. P., Hancharou A. Y., Zhmurovskaya L. S. et al. // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. Vol. 125, N 2. P. AB13.
17. Titov L. P., Hancharou A. Y., Putyrski L. et al. // Allergy. 2010. Vol. 65. Suppl. 99. P. 505.
18. Titov L. P., Hancharou A. Y., Skrahina A. M. // Allergy. 2011. Vol. 66. Suppl. 94. P. 513.
19. Хайдуков С. В., Зурочка А. В., Тоголян А. А. и др. // Мед. иммунология. 2009. Т. 11, № 2–3. С. 227–238.
20. Пинегин Б. В., Ярилин А. А., Симонова А. В. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека. М., 2001.
21. Rezvani K., Yong A. S., Mielke S. et al. // Blood. 2008. Vol. 111. P. 236–242.
22. Babel N., Brestrich G., Gondek L. P. et al. // Am. Soc. Nephrol. 2009. Vol. 20. P. 344–352.
23. Widmann T., Sester U., Gärtner B. C. et al. // PLoS ONE. 2008. Vol. 3, N 11. P. e3634.
24. Sester M., Sester U., Köhler H. et al. // AIDS. 2000. Vol. 14. P. 2653–2660.
25. Kiecker F., Streitz M., Ay B. et al. // Human Immunol. 2004. Vol. 65. P. 523–536.
26. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2008.
27. Genser B., Cooper P. J., Yazdanbakhsh M. et al. // BMC Immunol. [Электронный ресурс]. 2007. Vol. 8, N 27. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/8/27>. Дата доступа: 12.03.2012.
28. Караулов А. В. Клиническая иммунология и аллергология. М., 2002.
29. Новиков Д. К. Медицинская иммунология. Минск, 2005.
30. Земсков А. М. Клиническая иммунология: учебник. М., 2008.
31. Титов Л. П. Иммунология: терминологический словарь. М., 2008.

32. *Титов Л. П., Тарасюк В. В., Черношей Д. А., Жмуровская Л. С.* Метод оценки состояния Т-системы иммунитета у больных гепатитом С и микст-гепатитом С+С с использованием индексов активации и апоптоза: утв. Мин-вом здравоохран. Респ. Беларусь, рег. № 184–1205. Минск, 2005.
33. *Тарасюк В. В., Титов Л. П.* // *Здравоохранение.* 2005. № 8. С. 55–58.
34. *LeBien T. W., Tedder T. F.* // *Blood.* 2008. Vol. 112. P. 1570–1580.
35. *Curigliano G., Spitaleri G., Pietri E.* et al. // *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17. P. 750–762.
36. *Svane I. M., Pedersen A. E., Nikolajsen K., Zocca M. B.* // *Vaccine.* 2008. Vol. 26. P. 4716–4724.
37. *Brossart P., Wirths S., Stuhler G.* et al. // *Blood.* 2000. Vol. 96. P. 3102–3108.
38. *Svane I. M., Pedersen A. E., Johnsen H. E.* // *Cancer Immunol. Immunother.* 2004. Vol. 53. P. 633–641.
39. *Czerniecki B. J., Koski G. K., Koldovsky U.* // *Cancer Res.* 2007. Vol. 67, N 4. P. 1842–1852.

A. Y. HANCHAROU, L. P. TITOV, S. V. KOSHALEU, L. A. PUTYRSKI

IMMUNE STATUS AND ANTITUMORAL IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

Summary

The aim of the current research was to assess the immune status and tumor specific immune response in patients with breast cancer included into the trials of a new method of dendritic cell-based adjuvant breast cancer immunotherapy.

Immune status and specific immune response parameters were studied in 28 patients with breast cancer. It was shown that immunophenotypic parameters of patients ranged within normal physiological values. Antigen-specific cells were not detected in the blood of $25.0 \pm 8.2\%$ patients. The increase of antigen-specific lymphocytes in peripheral blood of $83.3 \pm 15.2\%$ patients during the course of immunotherapy was shown, indicative of the formation of immune response.

УДК 546.15 + 612.017.1]+ 616.441-006.6-089]:[612.017.1:575.857]

Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Платонова Т. Ю., Окулевич Н. М., Луцкич М. Л., Дрозд В. М., Корытько С. С.
Частота выявления тиреоидных аутоантител у пациентов, прооперированных по поводу карциномы щитовидной железы // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 38–45.

Оценена частота диагностических уровней антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ) и антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) у пациентов, прооперированных по поводу дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ), и проведено сравнение распространенности антителоносительства у пациентов этой группы с данными скрининга. Показано, что частота диагностических значений АТ-ТГ в общей группе пациентов с ДРЩЖ составила 10%, у женщин – 12, у мужчин – 6%, что сопоставимо с распространенностью антител в группе условного контроля. Диагностические титры АТ-ТПО у пациентов с ДРЩЖ обнаружены не были. Установлено, что выработка АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, имеет тесную связь с уровнем циркулирующего в крови ТГ.

Табл. 2. Ил. 2. Библиогр. – 28 назв.

УДК 616.314-76-026.569:004.925.8

Луцкая И. К., Шмелев А. В., Кавецкий В. П.
Компьютерное моделирование адгезивных волоконных конструкций в эстетической стоматологии // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 46–52.

С помощью метода конечных элементов изучено напряженно-деформированное состояние адгезивных волоконных конструкций. Разработаны компьютерные модели зубных протезов с различными вариантами расположения армирующего каркаса. Изучено влияние расположения волокна на возникновение и распределение максимальных значений растягивающих и эквивалентных (по Мизесу) напряжений в конструкции протеза. Полученные результаты позволили определить и обосновать рациональное расположение волоконного армирующего каркаса адгезивной конструкции, обеспечивающее снижение напряжений.

Табл. 3. Ил. 5. Библиогр. – 26 назв.

УДК 615.27-06:616.155.3-008.13

Бизунок Н. А.
Фармакодинамические взаимодействия N-замещенных производных L-пролина и клеточных модуляторов разного типа действия на модели FcγR-зависимого фагоцитоза // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 53–62.

N-ацетил-L-пролин и N-ацетил-L-гидроксипролин оказывают ингибирующее действие на продукцию активных форм кислорода (АФК) в макрофагах с EC₅₀ 0,32 и 0,15 мМ соответственно. В отношении Nox2-зависимой продукции АФК N-ацетил-L-пролин демонстрирует синергизм в комбинации с АТФ и антагонизм в комбинации с нифедипином и колхицином; при 10-кратном превалировании N-ацетил-L-пролин нивелирует стимулирующее действие на респираторный взрыв фагоцитов ацетилсалициловой кислоты и мелоксикама.

Табл. 7. Ил. 2. Библиогр. – 18 назв.

УДК 616:612.017.1

Гончаров А. Е., Титов Л. П., Кошелев С. В., Путьрский Л. А.
Иммунный статус и противоопухолевый иммунный ответ у пациенток, страдающих раком молочной железы // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 63–69.

Изучены показатели иммунного статуса и опухолеспецифического иммунного ответа у пациенток, страдающих раком молочной железы (РМЖ), включенных в клинические испытания нового метода адьювантной иммунотерапии РМЖ.

Исследование иммунного статуса и специфического иммунного ответа у 28 больных РМЖ показало, что иммунофенотипические показатели у них находятся в пределах физиологической нормы. У 75,0 ± 8,2% пациенток выявлены в крови антигенспецифические лимфоциты. Установлено увеличение числа антигенспецифических лимфоцитов в периферической крови 83,3 ± 15,2% пациенток в процессе иммунотерапии, что свидетельствует о формировании иммунного ответа.

Табл. 3. Ил. 1. Библиогр. – 39 назв.