

© Р. В. Павлов¹, С. А. Сельков²

¹ Ставропольская государственная медицинская академия: кафедра акушерства и гинекологии;

² НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

ПРИМЕНЕНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НАРУЖНОГО ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

■ В статье представлены результаты оценки эффективности противорецидивной терапии наружного генитального эндометриоза (НГЭ) с применением в послеоперационном периоде генно-инженерного (рекомбинантного) препарата интерлейкина-2 (рИЛ2) — «Ронколейкина». Показано, что через 6 месяцев после операции у больных НГЭ, получавших лечение ронколейкином основные иммунологические показатели приходят к нормальным значениям, в отличие от больных, получавших агонисты ГнРГ. На фоне применения ронколейкина максимальный клинический эффект в отношении симптомов НГЭ наступает гораздо раньше, чем на фоне применения гормональной терапии. Частота рецидивов НГЭ на фоне послеоперационного применения ронколейкина не отличается от таковых у пациенток, получавших после операции агонисты ГнРГ. Однако при этом пациентки не страдают от побочных эффектов терапии, возникающих при использовании агонистов ГнРГ. Частота наступления беременностей у больных с бесплодием, ассоциированным с НГЭ, получавших ронколейкин была в 2 раза выше, чем у пациенток, получавших гормональную терапию.

■ **Ключевые слова:** эндометриоз; иммунология; лечение

В настоящее время эндометриоз становится одной из ведущих проблем гинекологии, занимая по частоте распространения третье место в структуре заболеваний женских половых органов, после воспалительных заболеваний придатков матки и миомы [2, 3].

В контексте существующих представлений об эндометриозе как о гормонально-зависимом заболевании ведущее место в его комплексном лечении, наряду с хирургическим удалением очагов, занимает гормональная терапия. Накопленные за последние 20 лет данные в отношении эффективности комбинированного лечения эндометриоза позволяют утверждать, что вне зависимости от используемого гормонального препарата положительный эффект от послеоперационной гормональной терапии практически у половины больных эндометриозом носит временный характер. При этом необходимо отметить, что все гормональные препараты обладают определенным спектром побочных эффектов, выраженных в разной степени, тем не менее, оказывающих существенное влияние на качество жизни и репродуктивное здоровье больных [1, 3, 9, 10, 12].

Относительно высокая частота рецидивов эндометриоза, низкая частота восстановления фертильности и достаточно тяжелые побочные эффекты гормональной терапии заставили ряд исследователей обратиться к разработке качественно новых методов противорецидивной терапии этого заболевания, одним из которых является селективная иммуномодулирующая терапия с использованием цитокинов и их ансамблей [4, 5, 7, 8, 11]. Полученные нами ранее данные показали важную роль клеточного микроокружения и местного влияния цитокинов, которые будучи в первую очередь факторами паракринной и аутокринной регуляции могут оказывать существенное влияние на процессы имплантации гетеротопий или же их регресс. В связи с этим большое значение может иметь не только системная иммунокоррекция, но и местная иммуномодулирующая терапия. Это предположение подтверждают проведенные нами ранее эксперименты по эффективной терапии экспериментального эндометриоза у крыс при внутривагинальном введении интерферона и интерлейкина-2 [6].

Целью настоящей работы была оценка эффективности генно-инженерного (рекомбинантного) препарата интерлейкина-2 (рИЛ2) — «Ронколейкина» в комплексном лечении наружного генитального эндометриоза (НГЭ) при сочетании внутривагинального и внутривенного способов введения.

Материал и методы

В период с 2004 по 2008 год были организованы и проведены рандомизированные, простые, плацебо-контро-

лируемые клинические испытания по оценке эффективности монотерапии рИЛ2 человека («Ронколейкин», производство ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург) в профилактике рецидивов заболевания и восстановлении фертильности у больных НГЭ после лапароскопической коагуляции очагов. Клинические испытания проводились на базе гинекологического отделения Ставропольского краевого клинического перинатального центра и Ставропольского краевого клинического центра оказания специализированных видов медицинской помощи. Основную группу составили 40 больных НГЭ II–III степени распространения по классификации r-AFS (1985), получавшие в качестве противорецидивной терапии ронколейкин в течение 1 месяца. Контрольную группу составили 40 больных НГЭ II–III степени, у которых после лапароскопии применялся «Бусерелин-депо» (производство ЗАО «ФАРМ-СИНТЕЗ», Москва) в течение 6 месяцев.

Обе группы были сопоставимы по возрасту, диагнозу, структуре клинических проявлений, частоте бесплодия, объему оперативного вмешательства, равноценности общего медикаментозного комплекса.

Все больные основной и контрольной группы были в возрасте от 23 до 35 лет (средний возраст $30,2 \pm 2,5$ лет). Основными жалобами больных НГЭ были жалобы на бесплодие — у 46 (57,5 %) больных, болевой синдром — у 77 (96,2 %) пациенток, из них на дисменорею у 43 (53,7 %), тазовую боль, не связанную с менструацией, у 37 (46,3 %), диспареунию у 17 (21,3 %), боль в крестце у 26 (32,5 %) пациенток. Нарушения менструального цикла наблюдались у 42 (52,5 %) больных, из них на меноррагии предьявляли жалобы 28 (35,0 %) больных и мажущие кровянистые выделения до и после менструации — 27 (33,8 %) пациенток. Нарушения психоэмоциональной сферы от раздражительности до депрессии наблюдались у всех 80 (100,0 %) больных.

Всем исследованным пациенткам обеих групп проводилось стандартное предоперационное обследование, включающее общеклинические методы, ультразвуковое исследование органов малого таза, иммунологическое исследование, определение уровня СА125 в периферической крови.

Лапароскопия проводилась по общепринятой методике, с использованием оборудования фирмы «Karl Storz» (Германия). После визуальной ревизии брюшной полости и исключения другой патологии, оценивались локализация и цвет эндометриоидных гетеротопий и степень распространения НГЭ. Эндометриоидные оча-

ги иссекались в пределах здоровых тканей или коагулировались, проводилась хромосальпингоскопия и разделение спаек в малом тазу и брюшной полости в случае их наличия. После этого пациенткам основной группы в брюшную полость вводилось 0,5 МЕ ронколейкина, а после операции на 2-е, 4-е сутки и в последующем 2 раза в неделю, в течение 3 недель внутривенно вводился ронколейкин в дозировке 0,5 МЕ. Женщины контрольной группы, после удаления очагов эндометриоза, получали бусерелин-депо, по 3,75 мг внутримышечно один раз в месяц в течение 6 месяцев.

При анализе полученных во время лапароскопии данных было установлено, что чаще всего встречалось 3–4 очага эндометриоза брюшины и/или яичников. При этом наиболее часто очаги эндометриоза локализовались на брюшине Дугласова пространства — 62 (77,5 %) случая и крестцово-маточных связках — 50 (62,5 %)

случаев, несколько реже эндометриоидные очаги располагались на широких маточных связках — 38 (47,5 %) и значительно реже на брюшине пузырно-маточного углубления — 12 (15,0 %). Эндометриоидные кисты яичников или поверхностные очаги эндометриоза яичников выявлялись у 66 (82,5 %) больных, наличие красных очагов НГЭ, указывающее на высокую пролиферативную активность гетеротопий, было выявлено в 31 (38,8 %) случае, а в 49 (61,3 %) выявлялись черные очаги или их комбинации с белыми.

Спаечный процесс в малом тазу во время первой лапароскопии выявлялся у 50 (62,5 %) больных НГЭ. Отсутствие проходимости двух маточных труб при выполнении хромосальпингоскопии было установлено у 12 (15,0 %) больных, отсутствие проходимости одной маточной трубы — у 26 (32,5 %) больных, у остальных 42 (52,5 %) пациенток маточные трубы были проходимы.

Таким образом, с учетом количества, локализации, размеров очагов эндометриоза, степени выраженности спаечного процесса и проходимости маточных труб у 42 (52,5 %) больных имелась II степень распространения НГЭ, а у 38 (47,5 %) — III.

Основным критерием эффективности лечения являлось отсутствие рецидивов НГЭ при контрольной лапароскопии через 12 месяцев после завершения иммунотерапии (13 месяцев после операции) и 12 месяцев после завершения гормональной терапии (18 месяцев после операции).

Дополнительными критериями эффективности являлись регресс клинических проявлений

НГЭ, наступление беременности у больных с бесплодием в течение 12 месяцев наблюдения после завершения терапии, снижение уровня СА125 ниже 35 МЕ/мл в периферической крови и коррекция показателей иммунитета после завершения лечения.

Иммунологическое обследование 33 больных основной и 33 контрольной группы осуществлялось до и через 6 месяцев после операции и включало в себя определение клеточного состава и цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных клеток периферической крови (МНК) *in vitro*. В качестве нормативных показателей использовались данные иммунологического обследования 30 здоровых женщин.

Определение состава субпопуляций МНК выполнялось методом проточной цитометрии на проточном цитометре Bio Rad (Brute-NS, США), с использованием антител, конъюгированных с флуоресцеинизотиоцианатом и фикоэритрином (Caltag Laboratories, США). Определялось относительное и абсолютное количество CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 и CD25 клеток.

Перед культивированием выделение МНК из периферической крови осуществляли по методу, описанному А. Воуи (1968). Полученная клеточная суспензия инкубировалась в течение 24 часов при 37 °С и 100 % влажности в атмосфере 5 % CO₂. После истечения срока культивирования супернатанты очищали центрифугированием при 400 г в течение 30 мин, собирали в стерильные пластиковые пробирки типа «Эппендорф» и хранили до тестирования при -40 °С, не более 3 месяцев.

Уровень ИЛ8 («ВекторБест», Россия), ИЛ1β, ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, ФНОα и ИФНγ («Протеиновый контур», Россия) в культуральных средах определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на планшетном фотометре Labsystems iEMS Reader MF (Финляндия), согласно прилагаемым к наборам методикам.

При анализе данных иммунологического обследования, выполненного накануне операции, было установлено, что в периферической крови больных НГЭ отмечается активация макрофагального звена иммунитета, на что указывает увеличение количества моноцитов в 1,5 раза, уровня продукции ИЛ1β на 17,3 %, ФНОα на 34,4 %, ИЛ6 в 1,5 раза и ИЛ8 в 4,9 раза, при одновременном снижении активности Т-клеточного звена иммунитета и ЕК, подтверждением чего является снижение относительного количества CD3, CD4, CD8, CD16 и CD25-лимфоцитов, а также уровня продукции ИФНγ на 37,0 %.

Таким образом, учитывая нарушение активности преимущественно Т-клеточного звена

иммунитета у больных НГЭ, патогенетически обоснованным подходом в этом случае представляется использование экзогенного рИЛ2 человека в форме отечественного препарата «Ронколейкина».

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы «Primer Biostatistic 4.03. for Windows». Для всех показателей определяли средние значения (M), а также стандартную ошибку среднего (m). Для оценки степени достоверности различий между значениями использовался простой критерий Стьюдента (t). Различия между показателями считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Согласно результатам иммунологического исследования через 6 месяцев после операции у женщин, получавших бусерелин-депо не отмечалось достоверных изменений в составе МНК по сравнению с показателями до лапароскопии. У пациенток получавших, ронколейкин, через 6 месяцев от начала лечения относительное и абсолютное количество всех изучаемых МНК в периферической крови соответствовало значениям характерным для здоровых женщин, за исключением незначительно увеличенного относительного и абсолютного количества CD25-лимфоцитов.

При изучении продукции цитокинов МНК периферической крови *in vitro* было установлено, что через 6 месяцев после лапароскопии у женщин, получавших бусерелин-депо, сохраняется достоверное увеличение по сравнению с нормой продукции ИЛ1β на 20,9 %, ФНОα на 40,3 %, ИЛ6 в 1,5 раза, ИЛ8 в 4,2 раза, а уровень продукции ИФНγ остается пониженным на 28,4 %. В то же время МНК периферической крови больных, получавших ронколейкин, через 6 месяцев после лапароскопии продуцировали нормальное количество всех изучаемых цитокинов, за исключением ИЛ2, уровень продукции которого был практически в 2 раза выше нормы.

При анализе динамики клинических проявлений НГЭ было установлено, что на фоне терапии ронколейкином основное количество рецидивов болевого синдрома, нарушений менструального цикла и психоэмоциональных нарушений наблюдается в течение 6 месяцев после завершения цитокинотерапии, после чего у оставшихся пациенток наступает стойкий клинический эффект. На фоне приема бусерелина-депо в течение 6 месяцев у большинства больных наблюдается период относительного благополучия в отношении клинических проявлений заболевания. Однако, после отмены

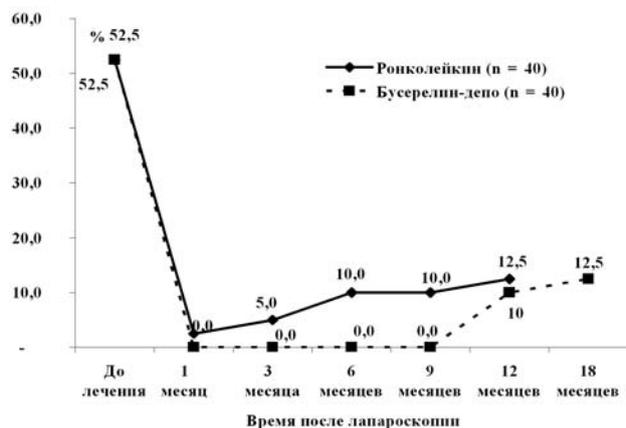


Рис. 1. Динамика нарушений менструального цикла у больных НГЭ после лапароскопического удаления очагов эндометриоза, с последующим применением ронколейкина и бусерелина-депо

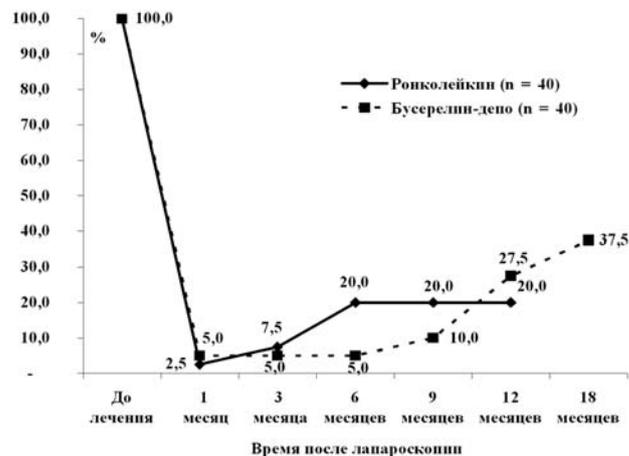


Рис. 2. Динамика нарушений психоэмоционального состояния у больных НГЭ после лапароскопического удаления очагов эндометриоза, с последующим применением ронколейкина и бусерелина-депо

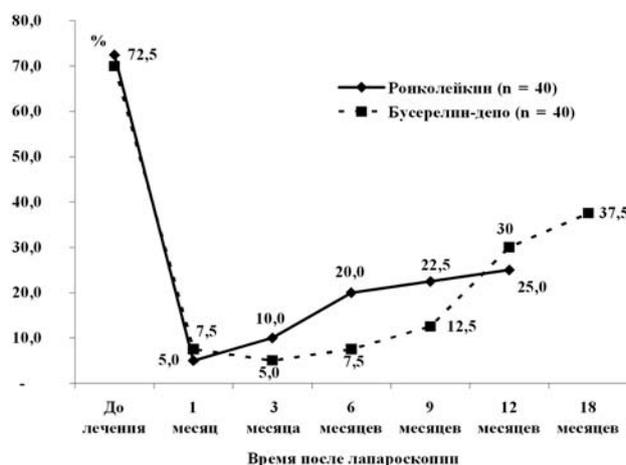


Рис. 3. Динамика уровня СА125 у больных с НГЭ после лапароскопического удаления очагов эндометриоза и последующего назначения ронколейкина и бусерелина-депо

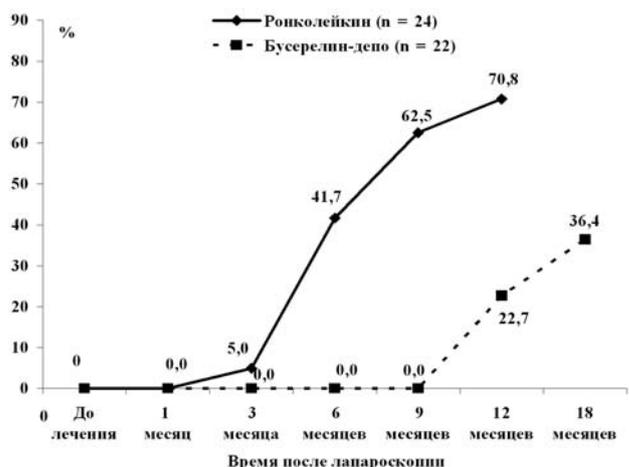


Рис. 4. Частота наступления беременности у больных с бесплодием, ассоциированным с НГЭ, после лапароскопического удаления очагов эндометриоза, с последующим применением ронколейкина и бусерелина-депо

гормонального лечения, в течение 12 месяцев наблюдения частота рецидивов болевого синдрома опережает таковую у пациенток, получавших ронколейкин практически в 2 раза, а количество рецидивов нарушения менструального цикла и психоэмоциональной сферы соответствует основной группе (рис. 1–2).

Динамика изменения уровня СА125 у больных основной и контрольной групп примерно соответствовала динамике клинических проявлений заболевания. В то же время необходимо отметить, что в группе, получавшей ронколейкин, через 12 месяцев после завершения иммунотерапии повышение уровня СА125 выше 35 МЕ/мл было зарегистрировано у 2 больных без клинических проявлений заболевания, чего не наблюдалось в группе, получавшей бусерелин-депо (рис. 3).

Через 12 месяцев после операции беременность у больных с бесплодием, получавших ронколейкин наступила в 17 (70,8 %) случаях, а в группе, получавшей бусерелин-депо, в 5 (22,7 %). В дальнейшем, за 6 месяцев наблюдения, частота наступления беременности была одинаковой в обеих группах: 3 (12,5 %) в группе, получавшей ронколейкин и 3 (13,6 %) в группе, получавшей бусерелин-депо. Таким образом, через 12 месяцев после завершения курса лечения жалобы на бесплодие сохранялись у 7 (29,2 %) из 24 больных с бесплодием, получавших ронколейкин и у 13 (59,1 %) из 22 больных с бесплодием, пролеченных бусерелином-депо (рис. 4).

Из 17 женщин, беременность которых наступила на фоне приема ронколейкина, беременность доносили 13 (76,5 %), а из 8 бере-

менных, получавших в послеоперационном периоде бусерелин-депо — 6 (75,0 %). Все они были родоразрешены путем операции кесарева сечения, в процессе выполнения которой не было обнаружено очагов эндометриоза и спаечного процесса в малом тазу, вследствие чего их можно было отнести в группу с достигнутым эффектом от проводимого лечения.

При выполнении диагностической лапароскопии или кесарева сечения очаги эндометриоза на брюшине малого таза или яичниках были обнаружены у 13 больных, получавших ронколейкин (30,0 %), и у 15 (37,5 %), получавших бусерелин-депо. Таким образом, частота рецидивов НГЭ была примерно одинаковой во всех группах, вне зависимости от используемого метода лечения.

Однако при выполнении контрольной лапароскопии наличие спаечного процесса было выявлено у 4 (10,0 %) больных, получавших ронколейкин, и у 15 (37,5 %) больных, получавших бусерелин-депо ($p < 0,001$). Непроходимость одной маточной трубы была зарегистрирована у 2 (6,9 %) больных, получавших ронколейкин, и 10 (29,4 %) пациенток, получавших бусерелин-депо. Двухсторонняя непроходимость маточных труб наблюдалась у 1 (3,4 %) больной, получавшей ронколейкин, и 5 (14,7 %) больных контрольной группы.

Заключение

Полученные данные позволяют утверждать, что через 6 месяцев после операции у больных НГЭ, получавших лечение ронколейкином, основные иммунологические показатели приходят к нормальным значениям в отличие от больных, получавших агонисты ГнРГ. На фоне применения ронколейкина максимальный клинический эффект в отношении симптомов НГЭ наступает гораздо раньше, чем на фоне применения гормональной терапии (4 и 9 месяцев после операции соответственно). Частота рецидивов НГЭ на фоне послеоперационного применения ронколейкина не отличается от таковых у пациенток, получавших после операции агонисты ГнРГ, однако без побочных эффектов последних. При этом спаечный процесс на фоне применения ронколейкина выявлялся достоверно реже. Частота наступления беременностей у больных с бесплодием, ассоциированным с НГЭ, получавших ронколейкин была в 2 раза выше, чем у пациенток, получавших гормональную терапию.

Таким образом, использование ронколейкина может являться альтернативным методом

гормональной, противорецидивной терапии НГЭ, в особенности у молодых пациенток с нереализованной репродуктивной функцией.

Литература

1. Адамян Л. В. Генитальный эндометриоз: роль эндоскопических методов и гормональной терапии в диагностике, лечении, мониторинге / Адамян Л. В. // Лапароскопия и гистероскопия в гинекологии и акушерстве / Адамян Л. В., Андреева Е. Н., Яроцкая Е. Л., Ткаченко Э. Р. — М.: Пантори, 2002. — С. 75–78.
2. Адамян Л. В. Эндометриозы: руководство для врачей / Адамян Л. В., Кулаков В. И., Андреева Е. Н. — 2-е изд. перераб. и доп. — М.: Медицина, 2006. — 416 с.
3. Баскаков В. П. Эндометриозидная болезнь / Баскаков В. П., Цвелев Ю. В., Кира Е. Ф. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. — 452 с.
4. Крамарева Н. Л. Значение компонентов иммунной системы и генетических факторов в патогенезе и терапии наружного генитального эндометриоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2002. — 24 с.
5. Сельков С. А. Особенности локальной продукции интерлейкинов и ростовых факторов при наружном генитальном эндометриозе / Сельков С. А., Солодовникова Н. Г., Павлов О. В., Ниаури Д. А. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2005. — Т. 139, № 4. — С. 439–442.
6. Сельков С. А. Сравнительная эффективность внутривнутрибрюшного введения интерлейкина-2 и α -интерферона при экспериментальном эндометриозе у крыс / Сельков С. А., Павлов Р. В. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2006. — № 3. — С. 335–339.
7. Системные и локальные уровни регуляции иммунопатогенетических процессов у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Сельков С. А., Ярмолинская М. И., Павлов О. В. [и др.] // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2005. — Т. LIV, Вып. 1. — С. 20–28.
8. Чернова Е. Г. Клинико-иммунологическая эффективность ронколейкина в комплексном лечении наружного генитального эндометриоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2002. — 24 с.
9. Bergqvist A. Current drug therapy recommendations for the treatment of endometriosis / Bergqvist A. // Drugs. — 1999. — Vol. 58, N 1. — P. 39–50.
10. Endometriosis: preoperative and postoperative medical treatment / Vercellini P., Frontino G., Giorgi O. De [et al.] // Obstet. Gynecol. Clin. North. Am. — 2003. — Vol. 30, N 1. — P. 163–180.
11. GnRH analogues, transvaginal ultrasound-guided drainage and intracystic injection of recombinant interleukin-2 in the treatment of endometriosis / Acien P., Quereda F. J., Gomez-Torres M. J. [et al.] // Gynecol. Obstet. Invest. — 2003. — Vol. 55, N 2. — P. 96–104.
12. Lyons T. L. Laparoscopic management of endometriosis using fiber lasers / Lyons T. L. // Endoscopy for diagnostics and treatment of endometriosis and pelvic pain. — Moscow, 2001. — P. 241–243.

Статья представлена Э. К. Айламазяном
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург

RONKOLEUKINE IN THE MIXED TREATMENT OF THE EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Pavlov R. V., Selkov S. A.

■ **Summary:** Results of recombinant interleukine-2 (Ronkoleukine) antirecurrent treatment of external genital endometriosis (EGE) during postsurgical time are represented in the report. Basic immunological characteristics are shown to return to nor-

mal values after 6 months after surgery in patients with EGE received Ronkoleukine treatment in contrast with patients received gonadotropin releasing hormone (GRH) agonists. Maximal clinical performance toward to EGE symptoms became earlier in the cases of Ronkoleukine usage in comparison with cases of GRH agonists usage. Frequency of EGE backsets is the same in both treatments after surgery. However, patients had not suffer due to adverse effects of GRH- agonists treatment. Frequency of pregnancies of patients with EGE associated infertility received Ronkoleukine was twice higher then of patients received hormone treatment.

■ **Key words:** endometriosis; immunology; treatment

РОНКОЛЕЙКИН®

Рекомбинантный ИНТЕРЛЕЙКИН-2 ЧЕЛОВЕКА




Достоверное снижение:

- летальности при сепсисе*, перитоните, деструктивном панкреатите, пневмонии;
- потребности в антибактериальных препаратах;
- количества койко-дней.

* по данным исследования в формате GSP (2003-2005)

Достоверное увеличение
медианы жизни при некоторых онкологических заболеваниях.

Сепсис
Злокачественные опухоли
Пневмонии
Туберкулез
Иммунодефицит, ВИЧ-инфекция
Гепатит С
Острый панкреатит
Острый перитонит
Урогенитальные инфекции





www.biotech.spb.ru
тел.: (812) 346-60-16