

На правах рукописи

МОЛЧАНОВ ОЛЕГ ЕВГЕНЬЕВИЧ

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДИНАМИКИ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ
ПОЧКИ, МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: Академик РАМН, профессор

Гранов Анатолий Михайлович

Официальные оппоненты

Русаков Игорь Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача по онкологии ГКБ № 57 г. Москвы.

Винокуров Владимир Леонидович, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения радиохирургической гинекологии ФГБУ «РНЦРХТ» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: ФГБУ «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. Акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___»_____2013 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.116.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70.

Автореферат разослан «___»_____2013г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.м.н., профессор

Мус Виктор Федорович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В последние 20 лет в результате интенсивного развития молекулярной биологии появились методы лечения и препараты, которые открыли новые возможности для увеличения продолжительности и улучшения качества жизни онкологических больных. Несмотря на это, клинический эффект удалось получить лишь у части пациентов. В пределах одной стадии продолжительность жизни больных могла различаться настолько существенно, что в ряде случаев невозможно было оценить эффективность терапии. В связи с этим возникла необходимость в разработке прогностических систем, которые позволили бы четко дифференцировать группы больных со сходными характеристиками в отношении продолжительности жизни и чувствительности к тому или иному виду лечения.

Исторически первые прогностические шкалы были созданы с использованием клинических и биохимических компонентов [De Forges A. et al., 1988; Elson P.J. et al., 1988; Lopez H.E. et al., 1996; Motzer R.J. et al., 1999]. В дальнейшем подобная роль отводилась хромосомным aberrациям, микросателлитной нестабильности, генным мутациям и изменению ростовых и транскрипционных факторов [Лазарев А.Ф. с соавт., 2007; Лоран О.Б. с соавт., 2007; Лоран О.Б. с соавт., 2008; Носов Д.А. с соавт., 2010]. Биохимические процессы, связанные с канцерогенезом, многокомпонентны. Поэтому учет какого-либо одного фактора не мог обеспечить адекватный прогноз. Все чаще стали появляться работы, где молекулярно-биологические параметры были интегрированы в математические модели [Shariat S.F. et al., 2004; Buhmeida A. et al., 2006; Birkhahn M. et al., 2010].

Одновременно с осознанием необходимости создания адекватных прогностических шкал на рубеже XX века произошла смена парадигмы взаимоотношения опухоли и иммунной системы. В молекулярной иммунологии и онкологии произошел ряд событий, который позволил прояснить участие различных факторов в канцерогенезе и изменить подходы к планированию

лечения онкологических больных. Были выявлены детали межклеточного взаимодействия канцерогенеза и воспаления [Balkwill F., Mantovani A., 2001; Balkwill F. et al., 2005]. Изучена роль цитокинов и лимфоцитов в неоангиогенезе и регуляции энергетического метаболизма [Hanahan D., Folkman J., 1996; Kroemer G., Pouysseur J., 2008; Egeblad M. et al., 2010]. Открыты клетки секреторного фенотипа, утратившие способность к делению, и описан связанный с ними феномен «спящего» состояния опухоли [Corpe J., 2008; Naumov G.N. et al., 2008; Teng M.W.L. et al., 2008; Davalos A.R. et al., 2010]. Обобщение экспериментальных и клинических данных позволило создать новую модель взаимодействия опухоли и иммунной системы [Dunn G.P. et al., 2002]. Современная концепция предполагает, что цитокины являются универсальными регуляторами, продуцируемыми иммунной системой, опухолью и клетками секреторного фенотипа. Опухоль формирует иммуносупрессивное микроокружение, поддерживающее ее рост. Интенсивность прогрессирования определяется балансом эффекторных и проканцерогенных механизмов [Kim R. et al., 2007; Grivennikov S.I. et al., 2011; Hanahan D., Weinberg R.A., 2011].

Опухоли мочеполовой системы широко распространены и характеризуются, в ряде случаев, непредсказуемостью течения и резистентностью к проводимой терапии. Почечно-клеточный рак составляет 2-3 % среди всех злокачественных новообразований взрослых. На момент диагностики у 30 % пациентов выявляются диссеминированные формы заболевания, еще у 30 – 50 % отдаленные метастазы появляются после оперативного вмешательства. Для этой категории больных разработано несколько прогностических систем. В качестве стандарта во многих исследованиях используется шкала MSKCC, но в ряде работ показано, что группы, выделяемые с ее помощью, отличаются прогностической неоднородностью [Atzpodien J. et al., 2003; Mekhail T.M. et al., 2005; Donskov F., Hans von der Maase., 2006]. Кроме того, эффективность проводимого лечения у

больных ПКР зависит от концентрации Т-регуляторных клеток [Носов Д.А. и др., 2010; Yamaguchi T. et al., 2006; Kim R. et al., 2007]. Рак предстательной железы составляет 8 -10 % среди всех новообразований. В связи с увеличением числа гормонорефрактерных форм смертность от него неуклонно растет. В настоящее время проводятся многочисленные исследования по поиску молекулярно-биологических прогностических факторов, которые позволили бы предсказывать исходы заболевания, вероятность рецидива и формирования гормонорефрактерности [Hammond M.E.H. et al., 2000; Buhmeida A. et al., 2006]. Патогенетически рак предстательной железы связан с гормонами и факторами роста, осуществляющими эндокринную и паракринную регуляцию. Но в процессе канцерогенеза с течением времени нарастает автономность опухолевых клеток. Это приводит к ослаблению влияния тестостерона и снижению роли PSA в мониторинге течения заболевания. В этих условиях становится актуальным изучение роли цитокинов и регуляторных субпопуляций лимфоцитов в прогрессировании опухоли. Рак мочевого пузыря составляет примерно 2,8 % среди всех опухолей. При этом заболеваемость постоянно увеличивается. После лечения у 50-70% больных выявляются рецидивы в течение 5 лет, а у 10-30 % трансформируются в мышечно-инвазивные формы. В последние 10 лет выявляется все большее число больных раком мочевого пузыря с агрессивным течением и низкой чувствительностью к традиционной химиотерапии [Jacobs V.L. et al., 2010]. В ряде работ продемонстрировано изменение параметров иммунного статуса и повышение эффективности лечения при использовании цитокинов [Валькова Т.В. с соавт., 2008; Вахабов О.У., 2010].

Таким образом, в свете современной концепции взаимодействия опухоли и иммунной системы для рака почки, мочевого пузыря и предстательной железы является актуальными следующие направления исследований: 1) создание математических моделей с включением сывороточных иммунологических компонентов, которые позволили бы прогнозировать

отдаленные результаты лечения, корректировать тактику, а для рака предстательной железы – предсказывать момент наступления гормонорефрактерности; 2) разработка методов локо-регионарного введения иммуностропных препаратов с целью увеличения степени экспрессии МНС и распознаваемости опухоли; 3) создание лечебных схем с включением факторов, подавляющих функции иммуносупрессорных клеток.

Цель и задачи исследования

Целью настоящего исследования являлось повышение эффективности консервативного лечения больных раком почки, мочевого пузыря и предстательной железы путем увеличения точности прогноза и использования методов подавления иммуносупрессивных компонентов.

Для достижения этой цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Оценена динамика субпопуляций лимфоцитов и цитокинов у больных почечно-клеточным раком, раком предстательной железы и мочевого пузыря. Определен объем необходимых обследований для мониторинга заболеваний.
2. Выявлены ключевые параметры, связанные с прогнозом, объемом поражения и непосредственными и отдаленными результатами лечения.
3. В результате многофакторного анализа определены наиболее значимые факторы, влияющие на выживаемость в исследуемых группах.
4. Разработан способ лечения почечно-клеточного рака, включающий системное и внутриартериальное введение химио - и иммунопрепаратов в сочетании с эмболизацией почечной артерии.
5. Разработаны прогностические системы для больных почечно-клеточным раком, позволяющие своевременно корректировать тактику лечения.
6. Разработан способ подавления иммуносупрессивных воздействий у больных почечно-клеточным раком в процессе химиоиммунотерапии.
7. Разработан способ лечения рака мочевого пузыря с использованием иммуностропных и алкилирующих препаратов.

8. Создана классификация иммунологических расстройств у больных раком почки, предстательной железы и мочевого пузыря.

Научная новизна исследования

Впервые для прогноза течения рака почки, мочевого пузыря и предстательной железы использованы показатели спонтанной и индуцированной продукции цитокинов. Разработана классификация иммунологических расстройств, отражающая последовательную дезорганизацию систем противоопухолевой резистентности.

Разработана тактика ведения больных с диссеминированным почечно-клеточным раком, основанная на прогностической модели, полученной с помощью дискриминантного анализа (Пат. 2405150 РФ. Способ определения продолжительности жизни больных с местно-распространенным и диссеминированным почечно-клеточным раком // А.М.Гранов, О.Е.Молчанов (РФ). опубл. 27.11.2010, Бюл. № 33. Пат. 2403056 РФ. Способ определения тактики лечения местно-распространенного и диссеминированного почечно-клеточного рака // А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.И.Школьник (РФ). опубл. 10.11.2010, Бюл. № 3).

Разработан и внедрен способ лечения больных почечно-клеточным раком путем сочетания системного и внутриартериального введения химио- и иммуностропных препаратов в сочетании с эмболизацией почечной артерии (Пат. 2179859 РФ. Способ лечения почечно-клеточного рака // А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, Ю.В.Суворова, М.И.Школьник (РФ); опубл. 27.02.2002, Бюл. № 26).

Разработан способ подавления функций Т-регуляторных клеток в процессе системной химиоиммунотерапии (Пат. 2409382 РФ. Способ лечения диссеминированного почечно-клеточного рака // О.Е.Молчанов, А.М.Гранов (РФ); опубл. 20.01.2011, бюл. № 2).

Разработан способ лечения рака мочевого пузыря, включающий лучевую терапию, гипертермию с гипергликемией и внутривезикулярное введение

рекомбинантного IL-2 в сочетании с алкилирующими агентами в метрономном режиме (Пат. 2276605 РФ. Способ лечения инвазивного рака мочевого пузыря // Г.М.Жаринов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.Н.Смирнов, М.В.Агафонова, В.Б.Климович, Н.Ю.Некласова (РФ); опубл. 20.05.2006, Бюл. № 14).

Практическая значимость исследования

Полученные результаты позволяют прогнозировать эффективность лечения больных раком почки, предстательной железы и мочевого пузыря.

Разработанные способы иммунотерапии в сочетании с методами подавления функций иммуносупрессорных клеток позволяют существенно улучшить отдаленные результаты лечения.

Использование тактики ведения больных диссеминированным почечно-клеточным раком, основанной на математической модели, полученной с использованием дискриминантного анализа позволяет снизить частоту побочных эффектов и стоимость лечения.

Внедрение разработанных математических моделей поможет улучшить прогностическую стратификацию больных при проведении клинических исследований.

Апробация работы

Основные положения диссертации изложены на VI, VII, X, XI Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2004, 2005, 2008, 2009); Всероссийском конгрессе «Человек и лекарство» (2003, 2005 год); Всероссийской конференции Российского цитокинового общества (2003); Всероссийской конференции «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (2003, 2005); Республиканской конференции онкологов Украины (2005); Съезде онкологов Белоруссии (2004 год); Российской конференции «Медицина XXI века» (2011); VII съезде онкологов и радиологов стран СНГ (2012).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 340 страницах машинописного текста. Состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация содержит 96 рисунков и 76 таблиц. Список использованной литературы включает 91 публикацию отечественных и 470 публикаций зарубежных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Показатели цитокинового профиля и субпопуляционный состав лимфоцитов связаны с объемом опухолевого поражения, влияют на результаты лечения и чувствительность к терапии.
2. Компоненты иммунологического профиля являются независимыми прогностическими факторами, определяющими показатели выживаемости.
3. Использование в схемах химио- и иммунотерапии методов подавления иммуносупрессивных воздействий повышает эффективность проводимого лечения.
4. Определенная в работе динамика компонентов цитокинового профиля является ранним предиктором прогрессирования опухолевого процесса.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования включал три этапа работы. На первом разрабатывались методы лечения больных исследуемых групп с учетом особенностей взаимодействия опухоли и иммунной системы, проводилась оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения, а также исследовалась динамика иммунологических показателей с использованием трех алгоритмов: оценка сывороточной концентрации и исследования в культуре до и после нескольких циклов лечения, а также при длительном наблюдении; оценка структуры иммунологических профилей; оценка параметров у больных с разным объемом поражения и чувствительностью к лечению. На втором этапе

в результате однофакторного и многофакторного анализов выявлялись показатели, влияющие на отдаленные результаты лечения. На третьем создавались прогностические модели и разрабатывались алгоритмы коррекции тактики лечения.

Почечно-клеточный рак. В исследование включено 248 больных ПКР, находившихся под наблюдением с 1998 по 2010 годы. Из них женщин – 156 (63 %), мужчин – 92 (37 %). Возраст больных, включенных в исследование – $57 \pm 9,5$ лет (от 35 до 84). Большая часть – 182 человека (73,4 %) относились к категории от 50 до 69 лет. Гистологическая верификация опухоли произведена у 179 больных (72,1 %). Структура новообразования устанавливалась в соответствии с классификацией ВОЗ. При обследовании в группе выявлены следующие морфологические варианты: светлоклеточный почечно-клеточный рак – 138 (55,6 %); мультилокулярный светлоклеточный почечно-клеточный рак – 8 (3,2 %); папиллярный почечно-клеточный рак – 14 (5,6 %); муцинозный веретенноклеточный почечно-клеточный рак – 2 (0,8 %); неклассифицируемый почечно-клеточный рак – 17 (6,9 %). Степень ядерной градации оценивалась в соответствии со схемой, предложенной Fuhrman S.A. с соавторами в 1982 году и принятой Американской ассоциацией урологической патологии в 1997 году [Fuhrman S. et al., 1982].

У больных, включенных в исследование, оценивался общий статус по шкалам ECOG – ВОЗ (0 баллов – 169 (68,2 %), 1 балл – 72 (29%), 2 балла – 7 человек (2,08%)), Карновского (100% - 92(37%); 90% - 77(31,2%); 80% - 35(14,1%); 70% - 37(14,9%); 60% - 5(2%); 50% - 2(0,8%)) а также прогноз с использованием критериев MSKCC (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; благоприятный прогноз – 72 (29%), промежуточный – 139 (56,1%), неблагоприятный – 37 (14,9%) больных), разработанных Motzer R.J. с соавторами [Motzer R.J. et al., 1999]. Степень распространенности опухолевого процесса оценивалась по данным компьютерной, магнитно-резонансной томографии, а также радионуклидных исследований. Стадия заболевания

устанавливалась в соответствии с TNM классификацией злокачественных опухолей шестого издания [Блинова Н.Н., 2003]. У 228 больных (92,2%) диагностирована IV клиническая стадия заболевания, у 20 (7,8%) – III. В группе больных, включенных в исследование, чаще всего выявлялись поражения легких (101 человек, 40,7%), лимфатических узлов (111 человек, 44,8 %) и костей (65 человек, 26,2%). У 82 человек (33%) было выявлено поражение двух и более органов. У 44 человек (17,7%) выявлен 1 метастатический очаг, у 77 (31%) – 2, у 53 (21,4 %) – 3 и у 68 (27,4%) - более 4. В подгруппе, где больным проводилась химиоиммуноэмболизация IV клиническая стадия диагностирована у 28 больных (67,1%) и III – у 14 (32,9%). В подгруппе с системной химиоиммунотерапией в сочетании с другими методами локального контроля IV стадия – 200 человек (97,1%), III стадия – 6 человек (6,9 %).

У больных ПКР использовались различные схемы химиоиммунотерапии в сочетании с эмболизацией почечной артерии или с другими вариантами циторедуктивных вмешательств. Базовым вариантом лечения была четырехкомпонентная схема, включавшая Ронколейкин[®] по 2 мг внутривенно капельно – 3 раза в неделю – 8 недель; Интерферон- α – 6 - 15 млн. МЕ внутримышечно через день, чередуя с Ронколейкином[®] – 8 недель; Кселода – 1000 мг/м² два раза в сутки – 14 суток (с 8 по 22 день цикла) и циклофосфамид (циклофосфан – 200 мг внутримышечно через день или эндоксан – 50 мг перорально ежедневно) с 5 по 8 недели цикла. При выявлении непереносимости одного из компонентов или развитии не корригируемых побочных эффектов, соответствующий препарат исключался из схемы лечения. На первом этапе (с 1998 по 2002 годы) использовалась трехкомпонентная схема (без циклофосфамида).

42 больным (16,9%) проведена эмболизация почечной артерии с использованием цитокинов и химиопрепаратов с последующей системной терапией. Внутрисосудистые вмешательства проводились в рентгеноперационной на ангиографических комплексах «Multistar» и

«Angiostar» («Siemens», Германия) по стандартным методикам. В процессе ангиографического вмешательства больному в почечную артерию вводили крупные частицы айвалона (0,5 – 0,6 мм) или гемостатическую губку (кубики 0,1 – 0,5 мм), смоченных в 96% этаноле. Далее в почечную артерию вводили интерферон - α в дозе 12 – 18 млн. МЕ. и 5-фторурацил – 1000 мг. После введения препаратов осуществлялась механическая окклюзия почечной артерии металлическими спиралями и гемостатической губкой до полной редукции кровотока в артерии, питающей опухолевый узел. Постэмболизационный синдром проявлялся в течение 7 - 10 суток. В этот период часто отмечались боли в поясничной области на стороне поражения, снижение диуреза, субфебрильная температура в вечерние часы. В первые несколько часов температура тела могла повышаться до 38.5 - 39.0 °С. В этом случае температурную реакцию купировали введением ненаркотическими анальгетиками или парентеральным однократным введением низких доз глюкокортикоидов. При наличии болевого синдрома применяли наркотические анальгетики. С целью профилактики гнойно-воспалительных процессов назначалась антибактериальная терапия. После купирования основных проявлений постэмболизационного синдрома больному проводили системную химиоиммунотерапию по схеме: Ронколейкин[®] по 2 мг внутривенно капельно – 3 раза в неделю – 3 недели; Интерферон- α – 6 - 15 млн. МЕ внутримышечно через день, чередуя с Ронколейкином[®] – 3 недели; 5-фторурацил - 750 мг/м² внутривенно в виде 72 часовых инфузий – 3 недели. Последующие циклы проводились по описанной выше схеме. При наличии признаков реваскуляризации процедура эмболизации повторялась.

При повышении уровня Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+Foxp3) выше 100x10⁹/л в период длительной стойкой стабилизации или перед основным курсом лечения использовалась схема подавления их активности, включающая Ронколейкин[®] по 1 мг внутривенно капельно или по 2 мг ингаляционно – 3 раза в неделю – 3 недели в сочетании с циклофосфамидом

(циклофосфан – 100 мг внутримышечно через день – 3 недели или эндоксан – 50 мг перорально ежедневно). Число курсов лечения и компонентный состав их отражены в таблице 1.

Таблица 1.

Компонентный состав и число курсов ХИТ у больных исследованной группы

	Компонентный состав системной иммунохимиотерапии					
	2 компонента	3 компонента				4 компонента
	Р + (Ц или Э)	К + И + (Ц или Э)	Р+И+ (Ц или Э)	Р + И + 5- FU	Р + И + К	Р + И + К + + (Ц или Э)
Число курсов	53 (4,9 %)	94 (8,7)	119 (11 %)	183 (16,9)	341 (31,1)	296 (27,4)

Р - Ронколейкин[®]; И – интерферон; Ц – Циклофосфамид; Э – Эндоксан; К – Кселода; 5 – FU – 5 – фторурацил.

Системная и локо-регионарная химиоиммунотерапия проводилась под контролем лабораторных и инструментальных методов обследования. КТ брюшной полости, малого таза и легких проводилось до лечения и после каждого цикла. Остеосцинтиграфия – каждые 24 недели. МРТ головного мозга – 1 раз в 12 месяцев. Клинический и биохимический анализ крови – каждые 7 – 10 дней. Другие исследования проводились при наличии показаний.

Рак мочевого пузыря. В исследование включены 32 больных РМП, находившиеся под наблюдением с 2001 по 2009 годы. Из них мужчин – 25 (78,1%), женщин – 7 (21,9%). Возраст пациентов – $68 \pm 8,6$ лет (от 43 до 82). Большая часть – 23 человека (72%) относились к категории от 60 до 79 лет. Во всех случаях был диагностирован переходно-клеточный РМП разной степени дифференцировки: G1 – 7 (21,8%), G2 – 12 (37,6%), G3 – 8 (25%), GX – 5 (15,6%) человек. Общий статус больных оценивался по шкалам ECOG-ВОЗ (0 баллов – 11 (34,4%), 1 балл – 17 (53,1%), 2 балла – 4 (12,5%) больных) и Карновского (100% - 5 (15,6%); 90% - 6 (18,8%); 80% - 10 (31,3%); 70% - 7 (21,8%); 60% - 4 (12,5%) человека). Распространенность опухолевого процесса оценивалась по данным радионуклидных исследований, компьютерной и магнитно-резонансной томографии. В исследованной группе II клиническая стадия была диагностирована у 6 больных (18,8%), III – у 12 (37,6%), IV – у 14

(43,6%). У 14 (43,8%) больных диагностированы метастазы в лимфатические узлы, у 1 больного – в печень, у 1 – в кости и у 2 – в легкие.

18 больным РМП проводилось комбинированное лечение, включавшее лучевую терапию, регионарную химиотерапию с гипергликемией, гипертермией и регионарной иммунотерапией.

Больным исследуемой группы лучевая терапия проводилась на гамма-терапевтической установке «РОКУС-М» и линейных ускорителях электронов с энергией 5, 15, 20 МэВ (ЛУЭ-20, ЛУЭ-75SL) в режиме тормозного излучения в два этапа по стандартным методикам. Через 4-6 недель после лучевой терапии проводили регионарную химиотерапию с гипергликемией и СВЧ-гипертермией. Перед этим проводилась регидратация в течение 1,5 – 2 часов путем внутривенного введения 1-1,2 л. 0,9% NaCl, Рингера и 5% глюкозы. Эндovasкулярные вмешательства проводились на столе ангиографического комплекса в положении больного лежа. После пункции бедренной артерии через артериальные катетеры с помощью инфузоматов вводили цисплатин в дозе 90 мг/м² или карбоплатин – 350 мг/м², растворяя из в 300-400 мл 30 % глюкозы. Одновременно с регионарной химиотерапией и гипергликемией проводились сеансы СВЧ – гипертермии с использованием аппарата «ЯХТА-3». Прогревание осуществлялось при помощи ректального датчика при температуре 43-47°С в течение 60 – 90 минут. Контроль уровня глюкозы в крови проводили до лечения, сразу после окончания процедуры и через час после нее. Всего проводили 2 цикла регионарной химиотерапии с гипергликемией и гипертермией с интервалом 4 недели. С начала лучевой терапии и затем в течение 10 недель больным один раз в неделю вводили 200 мг циклофосфана подкожно. После второго цикла регионарной химиотерапии с гипертермией и гипергликемией больным два раза в неделю в течение 8 недель вводили Ронколейкин[®] в дозе 2,0 мг внутривенно, растворяя в 50 мл 0,9% NaCl с экспозицией не более 3 часов.

14 больным РМП проводились различные варианты системной химиотерапии (MVAC, GC, цисплатин) и иммунотерапии (Ронколейкин[®], интерферон- α).

Периодичность инструментальных и лабораторных обследований больных раком мочевого пузыря: КТ легких, брюшной полости и малого таза – каждые 24 недели; клинический и биохимический анализ крови – 1 раз в 7 – 10 дней. Другие обследования – по показаниям.

Рак предстательной железы. В исследование включены 43 больных РПЖ, находившиеся под наблюдением с 2000 по 2005 годы. Возраст – 61,3 \pm 11,6 лет (от 37 до 82). Гистологическая верификация проводилась в соответствии с классификацией ВОЗ. В группе выявлено 2 гистологических варианта рака предстательной железы: мелкоацинарная (атрофическая) аденокарцинома – 41(95,3 %); крупноацинарная (псевдогиперпластическая) – 2 (4,7 %). Степень злокачественности опухоли оценивалась по шкале Глисона (2-4 – 5 (11,6%), 5-6 – 18 (41,9%), 7-10 – 13 (30,2%) человек) [Humphrey P.A., 2004]. У 7 (16,3%) больных индекс Глисона не определялся. Общий статус оценивался по шкалам ECOG – ВОЗ (0 баллов – 28 (65,1%), 1 балл – 14 (32,6%), 2 балла – 1 (2,3%) больных) и Карновского (100% - 17 (39,5%); 90% - 11 (25,6%); 80% - 10 (23,3%); 70% - 4 (9,3%); 60% - 1 (2,3%) человек). Гормонорефрактерность и эффективность лечения оценивалась определялась в соответствии с критериями Европейской Ассоциации урологов и Европейской рабочей группы по раку предстательной железы (гормоночувствительная опухоль – 32 (74,4%); гормонорефрактерная – 11(25,6%)) [Heidenreich A., 2008; Scher H.I., 2008]. У всех больных была диагностирована IV клиническая стадия заболевания. Поражение костной системы выявлено у 31 (73,8%), лимфатических узлов – у 28 (65,1%), легких – у 2 (4,7 %) и печени – у 2 (4,7%) больных. Поражение двух и более органов выявлено у 14 (33,3%) больных.

Больным РПЖ проводилась лучевая, гормональная терапия в разных режимах и системная химиотерапия при развитии гормонорефрактерности.

Аналоги гонадотропин-рилизинг гормона, антиандрогены, эстрогены и гормоноцитостатики. применялись в стандартных дозировках в виде интермиттирующей андрогенной блокады (32 человека) или длительной андрогенной супрессии (11 человек). 16 больным была произведена билатеральная орхидэктомия. Интермиттирующая андрогенная блокада применялась у больных с единичными отдаленными метастазами и при исходном уровне PSA меньше 100 нг/мл. Длительная андрогенная супрессия проводилась больным с множественными метастазами и исходным уровнем PSA больше 100 нг/мл. Возобновление или прерывание очередного курса лечения осуществлялось под контролем PSA и гормонального профиля.

Больным исследуемой группы проводилась дистанционная и системная паллиативная лучевая терапия, а также протонная гипофизэктомия. Дистанционное конвенциональное облучение проводилась на аппарате ЛУЭР – 15 ЭВ по стандартной методике. Системная радионуклидная лучевая терапия проводилась у больных с костными метастазами препаратами ^{89}Sr производства Amersham Int., UK и Медрадиопрепарат, Москва. Протонная «гипофизэктомия» осуществлялась медицинским протонным пучком с энергией 1000 МэВ Санкт-Петербургского института ядерной физики им. Б.П.Константинова по стандартной методике. Облучение проводилось за одну фракцию, поглощенные дозы в максимуме дозного поля составляли 70-110 Гр.

У больных, включенных в исследование, в крови оценивалось содержание субпопуляций лимфоцитов и цитокинов. Анализы проводились в иммунологической лаборатории ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России на лазерном проточном цитометре Cytomics FC 500 (BECKMAN COULTER Inc., USA) с использованием моноклональных антител и расходных материалов компаний BECKMAN COULTER Inc., IMMUNOTECH S.A.S., ООО «Протеиновый контур» и ООО «Цитокин».

Уровень лимфоцитов и их субпопуляций оценивался в периферической крови. Исследовались следующие показатели: зрелые Т-лимфоциты

(CD3+CD16-), цитотоксические лимфоциты (CD3+CD8+), Т-хелперы (CD3+CD4+), дубль-позитивные Т-клетки (CD4+CD8+), натуральные киллеры (CD3-CD16+CD56+), активированные натуральные киллеры (CD3-CD8+; CD16+CD56+HLA DR+), TNK – клетки (CD3+CD16+CD56+), В-лимфоциты (CD19+), лимфоциты с рецепторами к интерлейкину – 2 (CD25+), лимфоциты с маркерами апоптоза (CD95+), Т- регуляторные клетки (CD4+CD25+Foxp3), активированные Т- лимфоциты (CD3+ HLA DR+), активированные антиген-презентирующие клетки (HLA DR+), альфа/бета Т – лимфоциты ($\alpha\beta$ -Т), гамма/дельта Т – лимфоциты ($\gamma\delta$ - Т).

Анализ цитокинового профиля проводился в два этапа. На первом определялась сывороточная концентрация. На втором проводилось исследование в культуре клеток, где определялся их потенциал путем оценки спонтанной и индуцированной (ФГА, ЛПС) продукции цитокинов [Кетлинский С.А., Калинина Н.М., 2011]. Исследовались следующие показатели: IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- α , IFN- γ , TNF- α . Оценка субпопуляций лимфоцитов и параметров цитокинового профиля проводилась в одно и то же время суток, чтобы избежать влияния циркадных колебаний.

У больных раком предстательной железы параллельно с иммунным статусом оценивались показатели гормонального профиля: тестостерон, пролактин, ФСГ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, тиреотропный гормон, тетрайодтиронин, свободный тетрайодтиронин, трийодтиронин, свободный трийодтиронин, антитела к тиреоглобулину, антитела к тиреопероксидазе, кортизол.

У больных ПКР показатели иммунного статуса оценивались до начала системной химиотерапии и через 2 недели после каждого цикла лечения. У больных РМП – до начала лечения, после курса лучевой и регионарной иммунотерапии и через каждые 12 недель в дальнейшем. У больных РПЖ показатели иммунного статуса и гормонального профиля оценивались до начала лечения и через каждые 12 недель на фоне лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Почечно-клеточный рак

Непосредственные и отдаленные результаты лечения.

Непосредственные результаты лечения у больных местно-распространенным и диссеминированным ПКР оценивались после двух циклов химиоиммунотерапии. Непосредственные результаты лечения в подгруппах, где проводилась системная химиоиммунотерапия (ХИТ) и системная химиоиммунотерапия с эмболизацией отражены в таблице 1.

Таблица 1.

Непосредственные результаты лечения больных ПКР в подгруппах, где проводилось лечение с использованием только системной химиоиммунотерапии и системной химиоиммунотерапии в сочетании с эмболизацией

Лечение	Прогноз по MSKCC	CR,%	PR,%	SD,%	PD,%
ХИТ	Группа в целом	1	12	72	15
	БП	3,8	30,8	65,4	—
	ПП	—	2,4	83,8	13,8
	НП	—	—	51,6	48,4
ХИТ + эмболизация	Группа в целом	—	24	60	16
	БП	—	40	60	—
	ПП	—	12,5	62,5	25
	НП	—	—	50	50

CR – полный ответ, PR – частичный ответ, SD – стабилизация, PD – прогрессирование

Во всех прогностических группах преобладающей формой первичного ответа на лечение явилась стабилизация. При этом в группе с благоприятным прогнозом отмечено 2 полных ответа на лечение при отсутствии больных с прогрессированием заболевания, а в группе с неблагоприятным прогнозом отсутствовали полные и частичные ответы. У больных с частичным ответом на лечение среднее число курсов, проводимых впоследствии до прогрессирования, составило 8, со стабилизацией – 6.

Медиана выживаемости в группе с ХИТ составила 25 месяцев. Показатели выживаемости у больных с разным прогнозом достоверно отличались во всех прогностических подгруппах по MSKCC (БП – 42 мес., ПП – 16 мес., НП – 9 мес., $p < 0,05$). В подгруппе, где проводилось лечение без

алкилирующих препаратов по трехкомпонентной схеме, медиана выживаемости была достоверно ниже (18 месяцев) по сравнению с той, где использовалась четырехкомпонентная (25 месяцев, $p < 0.05$). В группе с ХИТ и эмболизацией почечной артерии медиана выживаемости составила 29 месяцев. Показатели выживаемости в подгруппе с благоприятным прогнозом достоверно отличались от других подгрупп (БП – 43 мес., ПП – 7 мес., НП – 7 мес., $p < 0,05$).

Динамика иммунологических показателей

1. Оценка динамики иммунологических показателей до лечения и после двух курсов химиоиммунотерапии позволила выделить те из них, значения которых достоверно меняются в группах с благоприятным и неблагоприятным прогнозом: а) субпопуляции лимфоцитов: CTL, NK, Treg, активированные зрелые Т-лимфоциты; б) цитокины: спонтанная продукция IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- α , IFN- γ и TNF- α ; индуцированная продукция IL-2 и IL-4; концентрация IL-8 и IFN- γ . Эти показатели изменяются на ранних этапах дезорганизации противоопухолевого иммунитета. Их целесообразно использовать для мониторинга лечения.

2. Анализ структуры иммунологических профилей в подгруппах с разным прогнозом по шкале MSKCC и различными исходами по критериям RECIST позволяет заключить, что для прогнозирования благоприятных и неблагоприятных исходов необходимо использовать два разных алгоритма. 1. Для предсказания положительного клинического эффекта целесообразно учитывать изменения в субпопуляционном составе лимфоцитов (смещение равновесия в сторону преобладания врожденных и приобретенных клеточных механизмов иммуногенеза: NK, TNK, активированные NK, HLADR+, $\gamma\delta$ - Т), снижение спонтанной продукции (IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ) и концентрации (IL-4, IL-6, IFN- γ , TNF- α) цитокинов. 2. Для предсказания прогрессирования заболевания акцент следует делать на оценке индуцированной продукции цитокинов (снижение IL-1, IL-6, IL8, IFN- α и повышение IL-4 и IL-10).

3. Динамика иммунологических параметров при длительном лечении отражает последовательную дезорганизацию противоопухолевых механизмов. С течением времени нарастает влияние компонентов, связанные с активацией канцерогенеза и иммуносупрессивной сети (IL-6, IL-8, IL-10, Treg) с одновременным снижением компонентов, обеспечивающих иммунологическую резистентность (NK, TNK, активированные NK, HLADR+).

4. У больных на фоне прогрессирования после длительного периода спонтанной или индуцированной стабилизации в первую очередь изменяются и достоверно различаются показатели спонтанной продукции IL-6, IL-8, IFN-γ; индуцированной – IL-8 и концентрации активированных NK. Эти изменения возникают в среднем на $16 \pm 4,3$ недель раньше, чем по данным КТ (таблица 2).

Таблица 2 .

Показатели спонтанной, индуцированной продукции цитокинов и активированных NK у больных с прогрессированием после длительного периода стабилизации

Характер стабилизации	Показатель	Стабилизация	Прогрессирование	p
На фоне системной ХИТ	IL-6, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	128 ±12	242 ±26	**p < 0,05
	IL-8, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	286 ± 18	310 ± 11	**p < 0,05
	IL-8, индуцированная продукция, pg/ml (M±m)	1680 ± 211	1214 ± 135	*p = 0,005
	IFN-γ, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	74 ± 9	118 ± 21	*p = 0,009
	CD16+CD56+HLA DR+, x 10 ⁹ /л, (M± m)	26,2 ± 1,4	32,3 ± 2,3	**p < 0,05
Спонтанная	IL-6, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	109 ±16	151 ±29	**p < 0,05

Характер стабилизации	Показатель	Стабилизация	Прогрессирование	p
	IL-8, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	241 ± 19	286 ± 38	**p < 0,05
	IL-8, индуцированная продукция, pg/ml (M±m)	2024 ± 131	1352 ± 242	**p < 0,05
	IFN-γ, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	52 ± 11	98 ± 26	**p = 0,032
	CD16+CD56+HLA DR+, x 10 ⁹ /л, (M± m)	18,1 ± 1,8	24,9 ± 1,9	**p < 0,005

M – среднее арифметическое; m – среднеквадратичная ошибка среднего арифметического; *p – достоверность различий, определяемая по критерию Стьюдента; **p – достоверность различий, определяемая по критерию Колмогорова - Смирнова.

5. Содержание Treg, спонтанная, индуцированная продукция и концентрация IL-6, IL-8, IL-10 и IFN-γ связаны с объемом опухолевого поражения (таблица 3).

Таблица 3.

Показатели спонтанной, индуцированной продукции, концентрации цитокинов и Treg у больных с разным объемом опухолевого поражения

		Число метастатических очагов			p
		1	2	Более 2	
Спонтанная продукция	IL-6, pg/ml(M±S)	77 ± 50	140 ± 148	239 ± 192	*p < 0,05 **p < 0,01
	IL-8, pg/ml(M±S)	152 ± 164	254 ± 184	592 ± 514	*p < 0,01 **p < 0,001
	IL-10, pg/ml(M±S)	41 ± 30	78 ± 64	130 ± 95	*p < 0,001 **p < 0,001
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	29 ± 19	79 ± 87	117 ± 115	*p < 0,001 **p < 0,001
индуцированная продукция	IL-6, pg/ml(M±S)	2626 ± 666	1975 ± 950	1287 ± 689	*p < 0,01 **p < 0,001

		Число метастатических очагов			p
		1	2	Более 2	
	IL-8, pg/ml(M±S)	2879 ± 1077	2088 ± 1012	1223 ± 797	*p < 0,05 **p < 0,001
	IL-10, pg/ml(M±S)	137 ± 78	197 ± 172	334 ± 269	*p < 0,05 **p < 0,001
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	682 ± 407	425 ± 262	280 ± 212	*p < 0,005 **p < 0,001
Концентрация	IL-6, pg/ml(M±S)	30 ± 22	54 ± 39	84 ± 48	*p < 0,01 **p < 0,001
	IL-8, pg/ml(M±S)	38 ± 19	49 ± 15	63 ± 18	*p < 0,001 **p < 0,001
	IL-10, pg/ml(M±S)	23 ± 11	31 ± 14	35 ± 13	*p < 0,005 **p < 0,05
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	32 ± 19	67 ± 89	99 ± 85	*p > 0,05 **p < 0,001 ***p < 0,01
	CD4+CD25+Foxp3 x 10 ⁹ /л, (M±S)	37 ± 7	48 ± 17	71 ± 50	*p < 0,005 **p < 0,01

M – среднее арифметическое; S – стандартное отклонение; * – достоверность различий параметра между группами с числом метастатических очагов 1 и 2.

** – достоверность различий параметра между группами с числом метастатических очагов 2 и более 2. *** – достоверность различий параметра между группами с числом метастатических очагов 1 и более 2.

Математические модели для прогнозирования отдаленных результатов лечения

При создании математических моделей использовалось два подхода: а) интегрирование иммунологических параметров в шкалу MSKCC; б) создание новых прогностических систем на основе многофакторного анализа с включением иммунологических факторов. На первом этапе проводился однофакторный анализ с целью выявления параметров, достоверно влияющих на отдаленные результаты лечения. На втором - многофакторный анализ для исключения компонентов, действующих однонаправлено и равнозначно. На третьем создавалась прогностическая модель. При проведении однофакторного анализа выявлено, что на отдаленные результаты лечения оказывают влияние следующие показатели: а) иммунологические: CD3+CD16-, CD3+CD4+,

CD3+CD8+, CD3-CD16+CD56+, CD3+CD16+ CD56+, CD16+CD56+HLA DR+, CD19+, CD3+HLA DR, HLA DR+, CD4+CD25+Foxp3, IL-2 (спонтанная продукция), IL-4 (спонтанная и индуцированная продукция), IL-6, IL-8, IL-10 (спонтанная, индуцированная продукция и концентрация), TNF- α (индуцированная продукция, концентрация), IFN- γ (индуцированная продукция); б) не иммунологические: гемоглобин, лактат дегидрогеназа, скорректированный кальций, статус по Карновскому, число метастатических очагов, циторедуктивное вмешательство (нефрэктомия, эмболизация). Результаты многофакторного анализа отражены в таблице 4.

Таблица 4.

Результаты многофакторного анализа в группе больных ПКР

Параметр		β	k %	M	Me	95% ДИ	p
Иммунологические факторы риска	IL-6, спонтанная продукция (pg/ml).	0,004	12,4	188	139	166-210	< 0,001
	IL-6, индуцированная продукция (pg/ml).	0,001	8	1689	1492	1574-1803	0,004
	IL-8, спонтанная продукция (pg/ml).	-0,005	14,8	430	373	374-486	< 0,001
	IL-8, индуцированная продукция (pg/ml).	0,001	7,2	1723	1570	1585-1862	0,045
	IL-10, спонтанная продукция (pg/ml).	-0,002	6,5	102	76	91-113	0,003
	IFN- γ , индуцированная продукция (pg/ml).	0,002	4,2	384	322	347-423	0,005
	CD4+CD25+Foxp3 (Treg) x 10 ⁹ /л	-0,004	10,6	60	48	53-66	0,045
Факторы риска по шкале MSKCC	Лактат дегидрогеназа (LDH)	0,001	7,9	234	218	207-259	0,048
	Гемоглобин (Hb) (g/L)	0,003	9,7	126	109	92-136	0,006
	Скорректированный кальций (mmol/L)	0,003	4,7	1,92	1,54	1,46-2,3	0,03
	Статус по	0,003	4,8	—			0,01

Параметр	β	k %	M	Me	95% ДИ	p
Карновскому						
Циторедуктивное вмешательство (нефрэктомия, эмболизация)	0,027	9,2		–		0,03

β – коэффициент уравнения регрессии; k – коэффициент влияния параметра; M – среднее арифметическое; Me – медиана; 95% ДИ – 95% доверительный интервал.

Наибольший вклад в регрессионную модель вносят уровень спонтанной продукции IL-8 (14,8%), IL-6 (12,4%) и концентрация Treg (10,6%), наименьший – индуцированная продукция IFN- γ (4,2%). Наибольшей дискриминантной способностью обладают: спонтанная продукция IL-6 и IL-8, а также индуцированная - IFN- γ . Их пороговые значения обуславливают максимальные различия в выживаемости между группами.

На основе многофакторного анализа создана интегрированная модель, включающая факторы шкалы MSKCC и иммунологические прогностические факторы (таблица 5).

Таблица 5.

Параметры прогностической модели, созданной на основе многофакторного анализа

Фактор риска		Интервал, определяющий риск	ОР	p
Факторы риска MSKCC	Гемоглобин (Hb) (g/L)	< 100 (+); > 100 (-)	1,9	0,03
	Лактат дегидрогеназа (LDH) U/L	> 300 (+); < 300 (-)	2,8	< 0,001
	Скорректированный кальций (mmol/L)	> 2,2 (+); < 2,2 (-)	3,1	0,008
	Статус по Карновскому, %	< 80 (+); > 80 (-)	1,6	0,043
	Циторедуктивное вмешательство (нефрэктомия, эмболизация)	Нет (+); Да(-)	1,9	0,04
Иммунологические факторы риска	IL-6, спонтанная продукция (pg/ml).	> 100 (+); < 100 (-)	4,8	< 0,001
	IL-6, индуцированная продукция (pg/ml).	< 800 (+); > 800 (-)	3,5	< 0,001
	IL-8, спонтанная продукция (pg/ml).	> 400 (+); < 400 (-)	4,1	< 0,001
	IL-8, индуцированная продукция (pg/ml).	< 1000 (+); > 1000 (-)	3,3	0,045
	IL-10, спонтанная продукция	> 100 (+); < 100 (-)	3,8	0,03

Фактор риска		Интервал, определяющий риск	ОР	р
	(pg/ml).			
	IFN- γ , индуцированная продукция (pg/ml).	< 800 (-); > 800 (+)	2,9	< 0,001
	CD4+CD25+Foxp3 (Treg) x 10 ⁹ /л	> 200 (+); < 200 (-)	2,7	0,038

Модель включает в себя определение прогноза по шкале MSKCC и оценку его в сочетании с иммунологическими факторами риска (1, 2-3, более 3 факторов). В результате формируется 9 клинических групп с разными отдаленными результатами лечения (таблица 6).

Таблица 6.

Отдаленные результаты лечения больных ПКР с разным числом иммунологических прогностических факторов

MSKCC		Группа	БП	ПП	НП
В группе	Me, мес.	24	42	16	9
	95% ДИ	22,3-26,5	37,2-43,5	18,2-22,8	6,8-9
0 – 1	Me, мес.	43,5	51	35,5	11,5
	95% ДИ	33,5-43	48,4-55,4	30,2-42,3	9,4-13,4
2 – 3	Me, мес.	18	44	16	9
	95% ДИ	20,8-26,3	41,2-48,1	16,2-20,5	6,7-9,9
Более 3	Me, мес.	10	25	8,5	5
	95% ДИ	12,2-16,6	22,6-26,8	8,7-13,4	4,2-7,2

Me- медиана выживаемости; 95% ДИ – 95% доверительный интервал;
 БП – благоприятный прогноз, ПП – промежуточный прогноз, НП – неблагоприятный прогноз.

Анализ выживаемости с учетом иммунологических факторов позволяет выявить признаки прогностической неоднородности внутри групп MSKCC.

1. Подгруппа с благоприятным прогнозом: а) показатели выживаемости достоверно отличаются у больных с разным числом иммунологических прогностических факторов (1, 2-3 и более 3); б) показатели выживаемости в группе с числом иммунологических факторов риска более 3 (25 месяцев)

меньше, чем в подгруппе с промежуточным прогнозом с минимальным числом иммунологических факторов риска (35,5 месяца).

2. Подгруппа с промежуточным прогнозом: а) показатели выживаемости достоверно отличаются у больных с разным числом иммунологических прогностических факторов (1, 2-3 и более 3); б) показатели выживаемости в группе с числом иммунологических факторов риска более 3 (8,5 месяцев) меньше, чем в подгруппе с неблагоприятным прогнозом с минимальным числом иммунологических факторов риска (11,5 месяца) и с 2-3 иммунологическими факторами риска (9 месяцев).
3. Подгруппа с неблагоприятным прогнозом: показатели выживаемости достоверно отличаются у больных с разным числом иммунологических прогностических факторов (1, 2-3 и более 3).

Для проведения дискриминантного анализа использовались параметры, которые при проведении однофакторного анализа показали значимое влияние на выживаемость (таблица 4). Линейные классификационные функции рассчитывались на основе данных прогностической модели с включением иммунологических параметров в MSKCC (таблицы 5, 6). Продолжительность жизни больных в группе была разбита на 4 диапазона в соответствии с медианами в подгруппах с разным числом иммунологических прогностических факторов. Было получено 4 интервала: 0 – 10 месяцев, 10-18 месяцев, 18 – 43 месяца, более 43 месяцев, для каждого из которых была рассчитана линейная классификационная функция:

$$F1 = 0,02 \times X1 + 0,03 \times X2 + 0,002 \times X3 - 0,0002 \times X4 - 7,65 \text{ (до 10 месяцев);}$$

$$F2 = 0,02 \times X1 + 0,03 \times X2 + 0,002 \times X3 + 0,003 \times X4 - 6,73 \text{ (10 – 18 месяцев);}$$

$$F3 = 0,03 \times X1 + 0,005 \times X2 + 0,004 \times X3 - 0,001 \times X4 - 12,37 \text{ (18 – 43 месяца);}$$

$$F4 = 0,02 \times X1 + 0,003 \times X2 + 0,008 \times X3 - 0,01 \times X4 - 13 \text{ (более 43 месяцев).}$$

X1 – IL-6, спонтанная продукция; X2 – IL-6, индуцированная продукция; X3 – IL-8, индуцированная продукция; X4 – IFN – γ , индуцированная продукция.

Дискриминантные функции рассчитывались с использованием пошагового анализа, путем последовательного исключения переменных из

модели. Уровень дискриминации оценивался с помощью статистики лямбда Уилкса (λ). Отнесение больного к какой-либо прогностической группе осуществлялось путем расчета линейных классификационных функций и сравнения их значений: 1) менее 10 месяцев - $F1 > F2$, $F1 > F3$, $F1 > F4$; 2) 10 – 18 месяцев - $F2 > F1$, $F2 > F3$, $F2 > F4$; 3) 18 – 43 месяца - $F3 > F1$, $F3 > F2$, $F3 > F4$; 4) более 43 месяцев - $F4 > F1$, $F4 > F2$, $F4 > F3$.

В первой группе необходимо проводить малотоксичное лечение, не ухудшающее качество жизни. Иммуноterapia, как правило, оказывается малоэффективной. У больных второй группы - системная химиоиммуноterapia с использованием четырехкомпонентной схемы с интервалами между курсами не более 2-3 недель, а при появлении признаков прогрессирования больные получают - ингибиторы ангиогенеза и тирозин-киназ. У больных третьей группы в случае достижения стойкой стабилизации после индукционного курса возможно проведение лечения только интерфероном- α и Ронколейкином[®]. При наличии стойкой стабилизации более, чем 18 месяцев, можно увеличить интервалы между курсами, но при этом осуществлять иммунологический мониторинг с использованием спонтанной продукции IL-6, IL-8, IFN- γ , индуцированной - IL-8, концентрации NK и Treg. Тенденция к повышению уровня Treg говорит о необходимости провести курс лечения алкилирующим препаратом в сочетании с Ронколейкином[®]. В случае повышения любого другого указанного выше параметра, необходимо воспроизвести схему лечения в полном объеме. У больных четвертой группы, характеризующихся наиболее благоприятным прогнозом, тактика в целом сходна с третьей. Различия заключаются в длительности периодов между курсами, которые могут достигать четырех месяцев.

Рак мочевого пузыря

Непосредственные и отдаленные результаты лечения. 18 больным было проведено комбинированное лечение по разработанной нами методике, включавшее лучевую терапию, регионарную гипергликемию с гипертермией и иммунотерапию. 14 человек получали различные варианты химио- и иммунотерапии (MVAC, GC, Цисплатин, интерферон- α , Ронколейкин[®]). В исследуемой группе у значительной части больных (31%) получен полный ответ. У оставшейся части примерно в равных пропорциях получен частичный ответ (25%), достигнута стабилизация (22%) или отмечено прогрессирование (22%) заболевания. Медиана выживаемости в исследуемой группе составила 34,5 месяца. У больных, получавших лечение в комбинации: лучевая терапия, регионарная химиотерапия, гипергликемия и гипертермия, средняя продолжительность жизни составила 57 месяцев. При сочетании локального введения Ронколейкина[®] в сочетании с циклофосфамидом – 62 месяца. Использование иммунотерапии в сочетании с комбинированным органосохраняющим лечением РМП позволяет повысить эффективность на 8,8%.

Динамика иммунологических показателей

1. Оценка динамики иммунологических параметров в процессе лечения РМП позволяет выделить две группы факторов, которые достоверно меняются в случае прогрессирования и частичного ответа: а) три субпопуляции лимфоцитов: CD 19+, CD25+, HLADR+; б) цитокины: спонтанная продукция IL-4, IL-10, IFN- γ и TNF- α ; индуцированная - IL-8, IFN- α , и TNF- α ; концентрация IL-4, IFN- α и TNF- α .
2. При анализе структуры иммунологических профилей выявлено, что положительный клинический эффект ассоциирован со сдвигом равновесия в сторону преобладания эффекторных клеточных субпопуляций, снижением спонтанной продукции IL-8 и TNF- α , снижением концентрации IL-6, IFN- γ и TNF- α . С прогрессированием связано снижение уровня индуцированной продукции IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α в 5 - 15 раз и повышение IL-10 в 6 - 8 раз.

3. С объемом опухолевого поражения связаны спонтанная, индуцированная продукция и концентрация IL-6, IL-8 и IFN- γ . У больных с отдаленными метастазами и без них наибольшие изменения характерны для всех показателей, связанных с IL-6 и индуцированной продукцией IFN- γ (таблица 7).

Таблица 7.

Показатели спонтанной, индуцированной продукции и концентрации цитокинов у больных с разным объемом опухолевого поражения

Параметр		Метастазы		p
		Да	Нет	
Спонтанная продукция	IL-6, pg/ml(M \pm S)	344 \pm 209	105 \pm 30	p < 0,001
	IL-8, pg/ml(M \pm S)	833 \pm 1092	364 \pm 197	p > 0,05
	IFN- γ , pg/ml(M \pm S)	158 \pm 109	46 \pm 15	p < 0,001
Индуцированная продукция	IL-6, pg/ml(M \pm S)	638 \pm 270	1553 \pm 880	p < 0,001
	IL-8, pg/ml(M \pm S)	698 \pm 618	1564 \pm 858	p = 0,003
	IFN- γ , pg/ml(M \pm S)	161 \pm 113	407 \pm 126	p < 0,001
Концентрация	IL-6, pg/ml(M \pm S)	96 \pm 44	55 \pm 19	p = 0,002
	IL-8, pg/ml(M \pm S)	66 \pm 24	53 \pm 6	p = 0,038
	IFN- γ , pg/ml(M \pm S)	153 \pm 100	38 \pm 6	p < 0,001

Влияние иммунологических параметров на отдаленные результаты лечения

У больных раком мочевого пузыря в исследуемой группе проводилась оценка влияния непрерывных и номинальных параметров на отдаленные результаты лечения.

Однофакторный анализ проводился с использованием следующих групп показателей: 1) клинические: статус по Карновскому, гистопатологическая дифференцировка, локализация метастазов, число метастатических очагов; 2) биохимические: гемоглобин, лактат дегидрогеназа, щелочная фосфатаза; 3) субпопуляции лимфоцитов: CD3+CD16⁻, CD3+CD4⁺, CD3+CD8⁺, CD4+CD8⁺, CD3-CD16+CD56⁺, CD3+CD16+CD56⁺, CD16+CD56+HLA DR⁺, CD19⁺, CD25⁺, CD95⁺, CD3+HLA DR, HLA DR⁺; 4) цитокины: IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- α , IFN- γ , TNF- α .

При проведении однофакторного анализа выявлено, что на отдаленные результаты лечения оказывают влияние следующие показатели: CD3+CD8⁺,

CD3+CD16+CD56+, IL-6 (индуцированная продукция), IL-8 (индуцированная продукция), IL-10 (спонтанная и индуцированная продукция), TNF- α (спонтанная продукция и концентрация), IFN- γ (концентрация), статус по Карновскому, наличие метастазов, лактат дегидрогеназа. Результаты многофакторного анализа отражены в таблице 8.

Таблица 8.

Результаты многофакторного анализа в группе больных РМП

Параметр	β	k %	M	Me	95% ДИ	p
IL-6, спонтанная продукция (pg/ml).	0,027	15	217	146	141-284	0,039
IL-8, индуцированная продукция (pg/ml).	0,006	24	115 8	957	847- 1470	0,045
IL-10, индуцированная продукция (pg/ml).	0,09	22	262	136	123-345	0,038
Наличие висцеральных метастазов	- 5,2	39	-			0,003

β – коэффициент уравнения регрессии; k – коэффициент влияния параметра; M – среднее арифметическое; Me – медиана; 95% ДИ – 95% доверительный интервал.

Среди иммунологических показателей наибольший вклад в регрессионную модель вносят уровни индуцированной продукции IL-8 (24%) и IL-10 (22%). Рост показателей выживаемости связан с повышением уровня индуцированной продукции всех цитокинов, входящих в регрессионную модель (таблица 9).

Таблица 9.

Влияние клинических и иммунологических факторов на отдаленные результаты лечения больных РМП

Фактор риска	Me	p
Наличие висцеральных метастазов	Да	< 0,001
	Нет	
IL-6, спонтанная продукция	< 146 pg/ml	0,01
	> 146 pg/ml	
IL-8, индуцированная продукция	> 957 pg/ml	0,04
	< 957 pg/ml	
IL-10, индуцированная продукция	< 136 pg/ml	0,001
	> 136 pg/ml	

Наибольшей дискриминантной способностью обладает спонтанная продукция IL-6. Его пороговое значение (146 pg/ml) обуславливают максимальные различия в выживаемости между группами.

Рак предстательной железы

Непосредственные и отдаленные результаты лечения. В исследуемой группе проводилась гормональная терапия в режиме интермиттирующей андрогенной блокады (32 человека) и длительной андрогенной супрессии (11 человек).

В обеих подгруппах преобладающей формой ответа на лечение являлась стабилизация (65,6% - интермиттирующая, 54,5% - длительная андрогенная супрессия). В подгруппе с длительной андрогенной супрессией не отмечено частичных ответов, а при проведении интермиттирующей андрогенной блокады – 21,9%. Прогрессирование заболевания при длительной и интермиттирующей андрогенной супрессии выявлено в 45,5% и 12,5% случаев соответственно. Полных ответов на лечение не отмечено ни в одной из групп.

Медиана выживаемости в исследуемой группе составила 31 месяц, в подгруппе с интермиттирующей андрогенной блокадой – 37,5 месяца, с длительной андрогенной супрессией – 20 месяцев.

Динамика иммунологических показателей

1. Оценка динамики иммунологических параметров в процессе лечения рака предстательной железы позволяет выделить три группы факторов, которые достоверно меняются в случае прогрессирования и частичного ответа: а) две субпопуляции лимфоцитов: CTL и активированные NK; б) цитокины: спонтанная продукция IL-8; индуцированная - IL-2 и IL-8; концентрация IFN- α , IFN- γ и TNF- α ; в) гормоны: тестостерон, пролактин, тироксин, антитела к тиреоглобулину и тиреопероксидазе.

2. Алгоритм прогнозирования благоприятных исходов связан с оценкой спонтанной продукции и концентрации, а неблагоприятных – индуцированной продукции цитокинов. При обоих вариантах изменяются показатели

гормонального профиля. С положительным клиническим эффектом ассоциированы: а) снижение спонтанной продукции ИЛ – 8 и TNF-α в 5-6 раз, IFN-γ – в 2 раза; б) снижение концентрации ИЛ-6 и IFN-γ в 6 раз, других цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF-α – в 2 раза; в) снижение уровня тестостерона и тироксина и повышение – антител к тиреоглобулину. С прогрессированием связаны: а) снижение концентрации CTL и NK; б) снижение уровня индуцированной продукции ИЛ-8 в 20 раз, ИЛ-6 и TNF-α в 5 раз и повышение ИЛ-10 в 10 раз; в) повышение концентрации пролактина.

3. При прогрессировании после периода длительной стабилизации в первую очередь повышаются спонтанная продукция ИЛ-10, концентрации антител к тиреоглобулину и понижается индуцированная продукция ИЛ-8 (таблица 10).

Таблица 10.

Динамика цитокинов и гормонов у больных РПЖ на фоне прогрессирования после периода длительной стабилизации

Показатель	Стабилизация	Прогрессирование	p
ИЛ-10, спонтанная продукция, pg/ml (M±m)	70 ± 7	211 ± 20	**p < 0,05
ИЛ-8, индуцированная продукция, pg/ml (M±m)	2651 ± 177	312 ± 42	*p < 0,05
Антитела к тиреоглобулину, U/ml (M±m)	94 ± 16	162 ± 34	**p = 0,047

M – среднее арифметическое; m – среднеквадратичная ошибка среднего арифметического; *p – достоверность различий, определяемая по критерию Стьюдента; **p – достоверность различий, определяемая по критерию Колмогорова - Смирнова.

4. С объемом опухолевого поражения связаны спонтанная, индуцированная продукция и концентрация ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, IFN-γ и TNF-α, а также концентрация пролактина. У больных с разным числом метастатических очагов максимальные изменения характерны для спонтанной продукции ИЛ-10 и индуцированной ИЛ-8 и TNF-α (таблица 11).

Таблица 11.

Показатели спонтанной, индуцированной продукции и концентрации цитокинов и гормонов у больных РПЖ с разным объемом опухолевого поражения

Параметр		Число метастатических очагов			p
		1	2 - 3	Более 3	
Спонтанная продукция	IL-6, pg/ml(M±S)	44 ± 5	65 ± 14	243 ± 185	*p = 0,04 **p < 0,001
	IL-8, pg/ml(M±S)	32 ± 6	120 ± 45	808 ± 526	*p = 0,006 **p = 0,02
	IL-10, pg/ml(M±S)	20 ± 14	52 ± 9	151 ± 982	*p < 0,001 **p < 0,001
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	7 ± 1	29 ± 8	186 ± 112	*p = 0,02 **p = 0,01
	TNF-α, pg/ml(M±S)	63 ± 12	31 ± 14	348 ± 287	*p = 0,003 **p < 0,001
Индуцированная продукция	IL-6, pg/ml(M±S)	3200 ± 151	2114 ± 1022	1238 ± 985	*p > 0,05 **p = 0,03 ***p < 0,001
	IL-8, pg/ml(M±S)	4397 ± 280	2768 ± 249	1212 ± 860	*p < 0,001 **p < 0,001
	IL-10, pg/ml(M±S)	144 ± 12	70 ± 18	420 ± 235	*p < 0,001 **p < 0,001
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	845 ± 195	536 ± 53	181 ± 121	*p < 0,001 **p < 0,001
	TNF-α, pg/ml(M±S)	1500 ± 302	880 ± 205	320 ± 225	*p = 0,001 **p < 0,001
Концентрация	IL-6, pg/ml(M±S)	7 ± 4	39 ± 13	94 ± 48	*p = 0,002 **p = 0,002
	IL-8, pg/ml(M±S)	30 ± 4	47 ± 6	66 ± 21	*p < 0,001 **p = 0,006
	IL-10, pg/ml(M±S)	15 ± 6	27 ± 9	38 ± 10	*p > 0,05 **p = 0,001 ***p < 0,01
	IFN-γ, pg/ml(M±S)	31 ± 4	26 ± 5	132 ± 105	*p > 0,05 **p = 0,001 ***p = 0,002
	TNF-α, pg/ml(M±S)	10 ± 2	36 ± 17	96 ± 38	*p = 0,02 **p < 0,001
	Пролактин, ng/ml (M±S)	4,8 ± 0,4	5,9 ± 3,9	11,2 ± 5,3	*p > 0,05 **p = 0,005 ***p = 0,045

5. У больных с гормоночувствительными и гормонорефрактерными формами достоверно различаются концентрации ИЛ-6, ИЛ-8, пролактина и индуцированная продукция ИЛ-10 (таблица 12).

Таблица 12.

Показатели индуцированной продукции и концентрации цитокинов и гормонов у больных РПЖ с гормоночувствительными и гормонорефрактерными опухолями

Показатель	Гормоночувствительная опухоль	Гормонорефрактерная опухоль	p
ИЛ-10, индуцированная продукция, pg/ml (M±m)	652 ± 36	819 ± 43	p < 0,05
ИЛ-8, концентрация, pg/ml (M±m)	68 ± 11	84 ± 8	p < 0,05
ИЛ-6, концентрация, pg/ml (M±m)	120 ± 11	164 ± 11	p = 0,041
Пролактин, ng/ml (M±m)	14 ± 4	18 ± 7	p = 0,032

Влияние иммунологических параметров на отдаленные результаты лечения

Однофакторный анализ проводился с использованием следующих групп показателей: 1) биохимические: гемоглобин, лактат дегидрогеназа, щелочная фосфатаза, PSA; 2) номинальные: статус по Карновскому, наличие и число метастатических очагов, чувствительность к гормональной терапии, вид гормональной терапии (непрерывная или интермиттирующая супрессия), орхидэктомия в анамнезе; 3) субпопуляции лимфоцитов: CD3+CD16-, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD4+CD8+, CD3-CD16+CD56+, CD3+CD16+ CD56+, CD16+CD56+HLA DR+, CD19+, CD25+, CD95+, CD3+HLA DR, HLA DR+; 4) цитокины: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, IFN-α, IFN-γ, TNF-α; 5) гормоны: тестостерон, пролактин, эстрадиол, тироксин (Т4), трийодтиронин (Т3), антитела к тиреоглобулину и тиреопероксидазе.

При проведении однофакторного анализа выявлено, что на отдаленные результаты лечения оказывают влияние следующие показатели: лейкоциты, CD3+CD16-, CD3+CD8+, CD3-CD16+CD56+, CD16+CD56+HLA DR+, CD3+CD16+ CD56+, CD19+, CD25+, ИЛ-6 (индуцированная продукция,

концентрация), IL-8 (спонтанная, индуцированная продукция, концентрация), IL-10 (спонтанная и индуцированная продукция), TNF- α (спонтанная продукция), IFN- γ (концентрация), статус по Карновскому, вид гормональной терапии, число метастатических очагов, орхидэктомия, пролактин, тироксин, трийодтиронин, антитела к тиреоглобулину. Результаты многофакторного анализа отражены в таблице 13.

Таблица 13.

Результаты многофакторного анализа в группе больных РПЖ

Параметр		β	k %	M	Me	95% ДИ	p
Иммунологические факторы риска	IL-6, спонтанная продукция (pg/ml).	-0,006	9	184	118	130-237	< 0,001
	IL-8, спонтанная продукция (pg/ml).	-0,003	16,6	578	354	322-834	< 0,001
	IL-8, индуцированная продукция (pg/ml).	0,002	12,2	1832	1887	1457-2207	0,045
	IL-10, спонтанная продукция (pg/ml).	-0,003	11	116	96	90-142	< 0,001
	CD16+CD56+HLA DR+x 10 ⁹ /л	0,001	5,8	25	21	19-31	0,048
Не иммунологические факторы риска	Пролактин (ng/ml)	-0,002	10,1	9,4	7,9	7,2-11	< 0,001
	Антитела к тиреоглобулину (U/ml)	0,003	6	62	67	51-82	0,04
	Статус по Карновскому	0,004	9			–	0,03
	Вид гормональной терапии	0,004	20,3			–	< 0,001

Максимальный вклад в регрессионную модель вносят спонтанная (16,6 %) и индуцированная (12,2%) продукция IL-8. Рост показателей выживаемости связан с повышением уровня индуцированной продукции IL-8 и концентрации активированных NK и антител к тиреоглобулину, а также снижением спонтанной продукции IL-6, IL-8, IL-10 и концентрации пролактина. Влияние компонентов регрессионной модели и других предикторов на отдаленные результаты лечения больных раком предстательной железы отражено в таблице 14.

Таблица 14.

Влияние клинических и молекулярно-биологических факторов риска на отдаленные результаты лечения больных РПЖ

Фактор риска		Ме, мес.	p
Индекс Карновского	> 80 %	40	0,03
	≤ 80 %	24	
Вид андрогенной супрессии	Интермиттирующая андрогенная блокада	38	< 0,001
	Длительная андрогенная супрессия	20	
Число метастатических очагов	1	48	> 0,05* < 0,05**
	2 - 3	45	
	Более 3	27	
Пролактин	< 7,9 ng/ml	41	< 0,001
	> 7,9 ng/ml	25	
Антитела к тиреоглобулину	> 67 U/ml	38	0,04
	< 67 U/ml	26	
IL-6, спонтанная продукция	< 118 pg/ml	44	< 0,001
	> 118 pg/ml	27	
IL-8, спонтанная продукция	< 354 pg/ml	42	< 0,001
	> 354 pg/ml	25	
IL-8, индуцированная продукция	> 1887 pg/ml	42	0,02
	< 1887 pg/ml	20	
IL-10, спонтанная продукция	< 96 pg/ml	43	0,01
	> 96 pg/ml	24	
CD16+CD56+HLA DR+	> 21 x 10 ⁹ /л	32	0,042
	< 21 x 10 ⁹ /л	21	

Наибольшей дискриминантной способностью обладают: спонтанная продукция IL-10 и индуцированная – IL-8. Их пороговые значения (96 pg/ml – для IL-10 и 1887 pg/ml – для IL-8) обуславливают максимальные различия в выживаемости между группами.

Интегральный анализ динамики отклонений от референсного диапазона клеточных субпопуляций и цитокинов, иммунологических профилей у больных с разным прогнозом по шкале MSKCC и разными исходами по критериям RECIST, а также особенностей их динамики при длительном лечении позволяет выделить несколько уровней иммунологических расстройств, связанных с

патогенезом и прогнозом и позволяющих корректировать тактику лечения. I уровень включает в себя изменения соотношений субпопуляций лимфоцитов. II характеризуется, прежде всего, снижением индуцированной продукции цитокинов. На III увеличиваются показатели спонтанной продукции и повышается относительное и/или абсолютное содержание Т-регуляторных клеток. На IV уровне изменяются показатели сывороточной концентрации цитокинов.

ВЫВОДЫ

1. В исследуемых группах динамика субпопуляций лимфоцитов и цитокинов связана с объемом поражения, непосредственными и отдаленными результатами лечения, а также с прогнозом заболевания. Минимальный набор параметров, необходимый для мониторинга следующий: а) цитокины - IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α (спонтанная продукция, индуцированная продукция и концентрация); б) субпопуляции лимфоцитов – CD3+CD8+, CD3-CD16+, CD3-CD16+HLADR+ и CD4+CD25+Foxp3.

2. Предикторами неблагоприятного прогноза являются снижение индуцированной продукции IL-6 и IFN- γ (в 3 раза меньше нижней границы референсного диапазона) и повышение IL-10 (в 4 – 5 раз выше верхней границы референсного диапазона). Благоприятный прогноз и положительный клинический эффект (полный и частичный ответ) ассоциированы с низкой спонтанной продукцией (IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ) и концентрацией (IL-6, IFN- γ и TNF- α) цитокинов, а также со сдвигом равновесия в сторону преобладания врожденных и приобретенных клеточных механизмов.

3. Динамика спонтанной, индуцированной продукции и концентрации IL-6, IL-8, IFN- γ (все опухоли), TNF- α (рак предстательной железы), IL-10 и концентрация CD4+CD25+Foxp3 (почечно-клеточный рак) в исследуемых группах связана с объемом поражения.

4. Концентрация IL-6, IL-8, пролактина, а также индуцированная продукция IL-10 в подгруппах больных гормонорефрактерными (IL-6 - 164 ± 11 pg/ml; IL-8

- 84 ± 8 pg/ml; IL-10 - 819 ± 43 pg/ml; пролактин - 18 ± 7 ng/ml) и гормоночувствительными (IL-6 - 120 ± 11 pg/ml; IL-8 - 68 ± 11 pg/ml; IL-10 - 652 ± 36 pg/ml; пролактин - 14 ± 4 ng/ml) формами рака предстательной железы достоверно различаются (IL-6 - $p = 0,041$; IL-8 - $p < 0,05$; IL-10 - $p < 0,05$; пролактин - $p = 0,032$).

5. Изменение уровней спонтанной продукции IL-6, IL-8, IFN- γ ; индуцированной продукции IL-8 и концентрации НК являются первыми признаками прогрессирования после длительного периода спонтанной или индуцированной стабилизации у больных почечно-клеточным раком. У больных раком предстательной железы такими показателями являются: спонтанная продукция IL-10, индуцированная продукция IL-8 и концентрация антител к тиреоглобулину. В группе больных почечно-клеточным раком эти изменения возникают в среднем на $12 \pm 3,6$, а раком предстательной железой - на $16 \pm 4,3$ недель раньше по сравнению с данными инструментальных исследований.

6. Использование алкилирующих противоопухолевых препаратов в метронормном режиме приводит к достоверному снижению уровня CD4+CD25+Foxp3, что обеспечивает условия для эффективной химиоиммунотерапии.

7. Независимыми иммунологическими прогностическими факторами являются следующие: а) в группе больных почечно-клеточным раком – спонтанная продукция IL-8 (максимальное влияние на модель – 14,8%), IL-10, индуцированная IL-10, IFN- γ ; б) в группе больных раком предстательной железы – спонтанная продукция IL-6, IL-8 (максимальное влияние на модель – 16,6%), IL-10, индуцированная – IL-8, концентрация CD3-CD16+HLADR+; в) в группе больных раком мочевого пузыря - спонтанная продукция IL-6, индуцированная - IL-8 (максимальное влияние на модель – 24 %) и IL-10.

8. Модификация шкалы MSKCC путем интеграции в нее иммунологических параметров повышает точность прогнозирования отдаленных результатов в группе больных почечно-клеточным раком.

9. Использование четырехкомпонентной схемы противоопухолевой лекарственной терапии приводит к достоверному улучшению отдаленных результатов лечения больных почечно-клеточным раком по сравнению с трехкомпонентной без алкилирующих препаратов (медиана – 25 и 18 месяцев соответственно, $p < 0,05$). В когорте больных, у которых выявлено 2 иммунологических фактора риска, показатели выживаемости достоверно выше в подгруппе, получавшей системную химиоиммунотерапию в сочетании с эмболизацией по сравнению с подгруппой, в которой проводилось только системное лечение (медиана – 31 и 18 месяцев соответственно, $p < 0,05$)

10. Локальное введение рекомбинантного IL-2 (Ронколейкин[®]) в группе больных инвазивным раком мочевого пузыря, которым проводилось лечение с использованием лучевой терапии, гипертермии и гипергликемии, повысило эффективность лечения на 8,8% ($p < 0,05$).

11. Созданная классификация выделяет 4 уровня дезорганизации цитокиновой регуляции, связанных с прогнозом заболевания: это дисбаланс субпопуляций лимфоцитов, повышение спонтанной продукции, снижение индуцированной продукции и изменение концентрации цитокинов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки прогноза заболевания, тактики лечения и мониторинга необходимо определять уровни спонтанной, индуцированной продукции и концентрации IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , лимфоцитов: CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD16+, CD3-CD16+HLADR+, CD4+CD25+Foxp3.

2. При повышении уровня CD4+CD25+Foxp3 у больных почечно-клеточным раком перед основным курсом химиоиммунотерапии целесообразно провести двухнедельный цикл rhIL-2 (Ронколейкин[®]) и алкилирующего препарата (циклофосфан, эндоксан) в метрономном режиме.

3. Эффективность химиоиммунотерапии повышается при снижении объема опухолевой массы. У больных с высоким риском прогрессирования по данным

иммунологического обследования в качестве циторедуктивного компонента целесообразно использовать эмболизацию почечной артерии.

4. У больных почечно-клеточным раком с благоприятным прогнозом по шкале MSKCC и минимальным числом иммунологических факторов риска (0-1) возможно проведение прерывистых режимов системной химиоиммунотерапии. Для мониторинга при этом необходимо определять уровни спонтанной продукции ИЛ-6, ИЛ-8, IFN- γ , индуцированной – ИЛ-8 и концентрации НК. Курс лечения необходимо возобновить при наличии устойчивой тенденции к повышению одного из этих параметров.

5. В процессе химиоиммунотерапии снижение уровня индуцированной продукции ИЛ-6, ИЛ-8, IFN- γ ниже границы референсного диапазона более, чем в 2 раза, а также повышение индуцированной продукции ИЛ-10 более, чем в 2 раза, свидетельствует о прогрессировании заболевания. В этом случае необходимо сменить тактику лечения и использовать препараты второй линии.

6. У больных раком предстательной железы с целью определения прогноза заболевания и тактики лечения необходимо определять уровни спонтанной продукции ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, индуцированной – ИЛ-8 и концентрации активированных НК. При подозрении на гормонорефрактерность - уровень индуцированной продукции ИЛ-10, а также сывороточную концентрацию ИЛ-6, ИЛ-8 и пролактина.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Карелин М.И. Промежуточная оценка применения препарата Ронколейкин (рекомбинантный ИЛ-2) у пациентов с почечно-клеточным раком. / М.И.Карелин, В.П.Александров, О.Е.Молчанов // Ежегодная республиканская научно - практическая конференция, Минск. – 2000. – Сборник научных трудов. – С. 13 - 17.
2. Молчанов О.Е. Оценка прогностических факторов в процессе иммунохимиотерапии почечно-клеточного рака. / О.Е.Молчанов, М.И.Карелин,

- М.И.Школьник // Актуальные вопросы урологии и андрологии, Санкт – Петербург. – 2001. – Сборник научных трудов. – С. 258-260.
3. Молчанов О.Е.. Лечение местнораспространенных и метастатических форм почечно-клеточного рака путем сочетания системной и локо-регионарной иммунохимиотерапии. / О.Е.Молчанов // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной онкологии, Москва. – 2001. – Сборник научных трудов. – С 60.
 4. Гранов А.М. Лечение почечно-клеточного рака путем эмболизации почечной артерии с последующей системной иммунохимиотерапией 5-фторурацилом, интерфероном- α и интерлейкином – 2 / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.Н.Смирнов // V ежегодная всероссийская онкологическая конференция, Москва. – 2001. – Сборник научных трудов. – С 140.
 5. Молчанов О.Е. Лечение местнораспространенных и метастатических форм почечно-клеточного рака путем сочетания химиоиммуноэмболизации почечной артерии и системной химиоиммунотерапии // О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // Новые технологии в медицинской радиологии, Санкт – Петербург. – 2001. – Сборник научных трудов. – С 65.
 6. **Молчанов О.Е. Химиоиммунотерапия диссеминированных форм почечно-клеточного рака с использованием интерферонов, рекомбинантного интерлейкина - 2, и химиопрепаратов из группы фторпиримидинов / О.Е. Молчанов, М.И. Карелин, М.И. Школьник // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 80.**
 7. **Молчанов О.Е. Современные тенденции применения препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 в онкологии / О.Е. Молчанов, М.И. Карелин, Г.М. Жаринов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т 1, № 3. – С. 38-47.**
 8. Молчанов О.Е. Опыт лечения почечно-клеточного рака путем сочетания локо-регионарной и системной химиоиммунотерапии / О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // Terra Medica. – 2002. – № 1(25). – С. 18-20.

9. Молчанов О.Е. Комбинированная иммунохимиотерапия диссеминированных форм почечно-клеточного рака. / О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // Дальневосточная онкологическая конференция, Биробиджан . – 2004. – Сборник научных трудов. – С 36.
10. Молчанов О.Е. Особенности дозовых режимов рекомбинантного дрожжевого интерлейкина -2 при лечении диссеминированных форм злокачественных новообразований / Ронколейкин® в онкологической практике // СПб: ЗАО «издательство «Скиф»», 2005. – 119 с.
- 11. Гранов А.М. Канцерогенез и иммунобиология опухоли: молекулярные и клинические аспекты / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов // Вопросы онкологии. – 2008. – Т. 54. – С.401-409.**
- 12. Гранов А.М. Роль гормонального профиля в коррекции тактики лечения рака предстательной железы / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // Вопросы онкологии. – 2008.– Т. 54. – С.457-463.**
13. Молчанов О.Е. Прогнозирование эффективности лечения диссеминированных форм почечно-клеточного рака на основе молекулярного мониторинга. / О.Е.Молчанов, А.М.Гранов // XII Российский онкологический конгресс, Москва. – 2008. – Сборник научных трудов. – С 11-16.
- 14. Гранов А.М. Влияние иммунологических параметров на эффективность системной и локо-регионарной иммунотерапии больных диссеминированным раком почки / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.И.Школьник, О.А.Кротова // Вопросы онкологии. – 2009.– Т. 55. – С.580-585.**
- 15. Молчанов О.Е. Иммунологический мониторинг биотерапии диссеминированных форм почечно-клеточного рака / О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // Онкоурология. – 2009. – № 4. – С. 13-19.**
16. Молчанов О.Е. Комбинированная иммунохимиотерапия и антиангиогенная терапия у больных почечно-клеточным раком. / О.Е.Молчанов, А.М.Гранов,

М.И.Карелин, М.И.Школьник // VII съезда онкологов России, Москва. – 2009. – Сборник научных трудов. – Том I. – С. 160.

17. Гранов А.М. Иммунологические паттерны у онкоурологических больных. / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин // VII съезда онкологов России, Москва. – 2009. – Сборник научных трудов. – Том II. – С. 93-94.
18. Гранов А.М. Современная системная и локо-регионарная иммунотерапия больных раком почки / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов // Ремедиум Приволжья. – 2010. – № 1. – С. 36-37.
19. Гранов А.М. Молекулярный портрет системы опухоль – организм в коррекции тактики лечения диссеминированных форм. / А.М.Гранов, В.И.Евтушенко, О.Е.Молчанов // Научный форум: «Наука и общество. Физиология и медицина XXI века», Санкт – Петербург. – 2011. – Сборник научных трудов. – С 17-19.
20. Молчанов О.Е. Современные прогностические системы в оценке эффективности системной химиоиммунотерапии с использованием Ронколейкина® / О.Е. Молчанов // Ann. Oncol. – 2012. – № 5 (19). – С. 38–39.

ПАТЕНТЫ

1. Пат. 2179859 Российская Федерация, 7 А61 К38/20, 38/21, А61 Р13/12, 35/00. Способ лечения почечно-клеточного рака / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, Ю.В.Суворова, М.И.Школьник (РФ). – № 2001113631/14; Заявл. 22.05.2001; Оpubл. 27.02.2002, Бюл. № 26.
2. Пат. 2216325 Российская Федерация, 7 А61 К31/505, 38/20, 38/21, А61 Р13/12, 35/00. Способ определения тактики лечения диссеминированного почечно-клеточного рака / О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.Н.Смирнов (РФ). – № 2002127546/14; Заявл. 15.10.2002; Оpubл. 20.11.2003, Бюл. № 32.
3. Пат. 2276605 Российская Федерация, 7 А61 К31/675, 31/282, 38/20, А61 35/00. Способ лечения инвазивного рака мочевого пузыря / Г.М.Жаринов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.Н.Смирнов, М.В.Агафонова,

В.Б.Климович, Н.Ю.Некласова (РФ). – № 2005111645/14; Заявл. 20.04.2005; Оpubл. 20.05.2006, Бюл. № 14.

- 4. Пат. 2403056 РФ, 7 А61 К38/20, 38/21, 31/675, 31/7068, А61 Р35/00. Способ определения тактики лечения местно-распространенного и диссеминированного почечно-клеточного рака // А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, М.И.Карелин, М.И.Школьник (РФ). – № 2009122675/15; Заявлено 16.06.2009; Оpubл. 10.11.2010, Бюл. № 31.**
- 5. Пат. 2405150 Российская Федерация, G01N 33/49. Способ определения продолжительности жизни больных с местно-распространенным и диссеминированным почечно-клеточным раком / А.М. Гранов, О.Е.Молчанов (РФ). – № 2009122674/15; Заявл. 16.06.2009; Оpubл. 27.11.2010, Бюл. № 33.**
- 6. Пат. 2409382 Российская Федерация, 7 А61 К38/20, 31/675, 35/60, А61 Р 35/00. Способ лечения диссеминированного почечно-клеточного рака / О.Е.Молчанов, А.М. Гранов (РФ). – № 2009129923/15; Заявл. 5.08.2009; Оpubл. 20.01.2011, Бюл. № 2.**

МОНОГРАФИИ

1. Молчанов О.Е. Современные тенденции иммунотерапии злокачественных опухолей / О.Е.Молчанов, И.А.Попова, В.К.Козлов, М.И.Карелин. – СПб: Изд-во С-Петербур. Ун-та, 2001 г. – 85с.
2. Козлов В.К., Молчанов О.Е, Жаринов Г.М. Иммуноterapia рекомбинантными цитокинами в лечении онкологических больных / Успехи клинической иммунологии и аллергологии // Под ред. А.В. Караулова. – М.: изд. регионального отделения РАЕН, 2002. – Том III. – 417 с.
3. Александров В.П., Молчанов О.Е. Гормональная терапия рака предстательной железы / Рак предстательной железы // Под ред. В.П.Александрова, М.И.Карелина. – СПб: Издательский дом СПбМАПО, 2004. – 148 с.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ, ПОСОБИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

1. Молчанов О.Е.. Цитокинотерапия злокачественных опухолей интерлейкином-2. Пособие для врачей / О.Е. Молчанов. – СПб.: Издательство «Ясный Свет», 2002. – 38 с.
2. Гранов А.М. Способ лечения почечно-клеточного рака. Методические рекомендации (регистрационное удостоверение № ФС 2005/029 от 04.06.05) / А.М.Гранов, О.Е.Молчанов, П.Г.Таразов, М.И.Карелин, М.Н.Смирнов. – СПб, 2005.– 15 с.
3. Жаринов Г.М. Многокомпонентное органосохраняющее лечение инвазивного рака мочевого пузыря. Пособие для врачей / Г.М.Жаринов, М.В.Агафонова, П.Г.Таразов, С.И.Горелов, Ю.В.Суворова, Н.Ю.Некласова, О.Е.Молчанов. – СПб., 2007. – 28 с.
4. Молчанов О.Е. Применение Ронколейкина[®] (рекомбинантного интерлейкина-2) в онкологии. Пособие для врачей / О.Е. Молчанов. – СПб.: Новая Альтернативная Полиграфия, 2009. – 36 с.
5. Молчанов О.Е. Применение Ронколейкина[®] (рекомбинантного интерлейкина-2) в онкологии. Пособие для врачей. Издание 3-е, обновленное и дополненное / О.Е. Молчанов. – СПб.: Новая Альтернативная Полиграфия, 2010. – 44 с.

Список сокращений

MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
РМП	Рак мочевого пузыря
РПЖ	Рак предстательной железы
ПКР	Почечно-клеточный рак
КТ	Компьютерная томография
МРТ	Магнитно-резонансная томография
НК	Натуральные киллеры
TNK	Натуральные киллеры с Т-клеточным рецептором
Treg	Т – регуляторные клетки
CTL	Цитотоксические лимфоциты
MHC	Главный комплекс гистосовместимости
ХИТ	Химиоимунотерапия