

На правах рукописи

ЗЛАТНИК ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА

**РОЛЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ
ХИМИОТЕРАПИИ НА АУТОЛОГИЧНЫХ ЖИДКИХ ТКАНЯХ
У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

14.00.14 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Ростов-на-Дону

2003

РАБОТА ВЫПОЛНЕНА В РОСТОВСКОМ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ МЗ РФ
ДИРЕКТОР ИНСТИТУТА АКАДЕМИК РАМН Ю.С.СИДОРЕНКО

Научный консультант: академик РАМН, доктор медицинских наук,
профессор **Ю.С. Сидоренко**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
И.А. Горошинская
доктор медицинских наук, профессор
Л.П. Сизякина
доктор медицинских наук, профессор
Н.А. Огнерубов

Ведущая организация: Волгоградский государственный медицинский
университет

Защита состоится «18» Июля 2003 г. в 10 час. на заседании дис-
сертационного совета Д 208.083.01 при Ростовском научно-исследовательском
онкологическом институте МЗ РФ (344037, г.Ростов-на-Дону, 14 линия, 63).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ростовского научно-
исследовательского онкологического института МЗ РФ.

Автореферат разослан «17» Июля 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

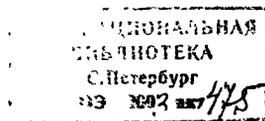


Г.А.Неродо

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. На современном этапе развития онкологии и иммунологии уже нет необходимости в доказательстве того, что иммунный гомеостаз играет одну из ведущих ролей в противоопухолевой защите организма (Ломакин М.С., 1990; Билинский Б.Т. и соавт., 1991; Брондз Б.Д., Балашов К.Е., 1991; Кадагидзе З.Г., 1999; Ярилин А.А., 1999). Онкологические проблемы тесно связаны с проблемами иммунодефицитных состояний, поскольку одной из важнейших функций иммунной системы является иммунологический надзор, а именно, контроль за процессами пролиферации и дифференцировки. В связи с этим сохранность иммунной системы в ходе проведения противоопухолевого лечения чрезвычайно важна, но труднодостижима, так как применяемые методы лечения (оперативные вмешательства, лучевая терапия, химиотерапия) усугубляют иммунодепрессию. Поиск новых щадящих методов химиотерапии является одной из основных задач экспериментальной и клинической онкологии. Биотерапия онкологических заболеваний, включающая прежде всего иммуномодуляцию, также представляется актуальным и перспективным современным научным направлением (Кадагидзе З.Г., 1997, 1998, 1999; Кузнецов В.П., 2000; Osmond M.E., Ross S., 1990; Borden E., Sondel P., 1990; Oldham R.K., 1991; Hadden J.W. et al., 1999). Исследования в этой области предусматривают использование медикаментозных и немедикаментозных средств, в том числе при экстракорпоральном воздействии на иммунокомпетентные клетки онкологических больных (Новиков В.И. и соавт., 1999; Гриневич Ю.А., Фильчаков Ф.В., 2000; Rosenberg S.A. et al., 1985; Rosenberg S.A., 1993, 1997; Arinaga S. et al., 1995; Bast R.S. et al., 1997; Goldfarb R. et al., 1999).

Многолетние исследования, проводимые в Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте под руководством академика РАМН Ю.С.Сидоренко, явились основой для формирования представлений о более высокой эффективности цитостатиков при экстракорпоральной обработке ими крови и лимфы с последующим введением больным этих аутологичных



жидких тканей. Методы аутогемо- и аутолимфохимиотерапии (АГХТ и АЛХТ) нашли применение для лечения злокачественных новообразований многих локализаций; при этом было показано их более выраженное противоопухолевое действие и лучшая переносимость по сравнению с химиотерапией на стандартных растворителях (Лазутин Ю.Н., 1996; Словеснова В.Г., 1996; Малейко М.Л., 1998; Попова И.Л., 1999; Семилеткин О.М., 1999; Владимирова Л.Ю., 2000; Козель Ю.Ю., 2001; Голотина Л.Ю., 2002).

Несмотря на значительный опыт применения методов АГХТ и АЛХТ в клинической практике, механизмы их эффективности (и следующие из этого перспективы развития) еще недостаточно изучены, однако, они потенциально содержат иммунологический компонент, связанный либо с реакцией организма больного на введение химиопрепаратов на аутологичных биологических жидкостях, либо с изменением свойств этих жидких тканей и/или цитостатиков при их совместной инкубации.

Вопросы иммунотерапии и иммунокоррекции при онкопатологии также продолжают оставаться актуальными (Поддубная И.В., 1996, 1999; Кадагидзе З.Г., 1997, 1998, 1999). В связи с этим представляет особый интерес применение новых иммуномодуляторов, а также новых способов их введения, например, после инкубации с клетками аутокрови и аутолимфы, тем более при совместном применении с АГХТ и АЛХТ.

Таким образом, актуальность диссертационной работы обусловлена актуальностью проблем химиотерапии и иммунокоррекции при злокачественных опухолях, и в частности, применением новых методов химиотерапии (АГХТ и АЛХТ), роль иммунной системы в реализации эффектов которых практически не изучена.

Цель исследования. Изучить иммунологические аспекты новых методов химиотерапии, предусматривающих обработку аутологичных жидких тканей (крови и лимфы) и их компонентов (плазмы) химиопрепаратами; оценить иммунологическую эффективность этих методов при злокачественных новообразованиях; разработать адекватные подходы к иммунокоррекции при аутогемо-

химиотерапии и аутолимфохимиотерапии.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи.

1. Изучить влияние химиопрепаратов и их стандартных сочетаний на иммунобиологические свойства лимфоцитов при экстракорпоральной инкубации с кровью и лимфой онкологических больных.

2. Изучить динамику изменения иммунного статуса в ходе аутогемохимиотерапии и аутолимфохимиотерапии у больных с солидными злокачественными новообразованиями – местно-распространенным и генерализованным раком различной локализации (молочной железы, легкого, толстой и прямой кишки, орофарингеальной области) и лимфопролиферативными заболеваниями (лимфогранулематозом, неходжкинскими лимфомами).

3. Изучить влияние иммуностропных препаратов (эпиталамина, ронколейкина, суперлимфа, реаферона) на иммунобиологические свойства лимфоцитов при непосредственном воздействии, обосновать использование этих препаратов для введения на аутокрови и аутолимфе.

4. Исследовать влияние переменного магнитного поля на функции иммунокомпетентных клеток крови и лимфы онкологических больных при экстракорпоральной обработке.

5. Исследовать влияние переменного магнитного поля на иммунный статус больных при включении в лечение злокачественных опухолей методов магнитотерапии и аутогемомагнитотерапии.

6. Изучить динамику иммунного статуса онкологических больных при использовании аутогемохимиотерапии, модифицированной с помощью медикаментозных и немедикаментозных методов иммунокоррекции.

7. Изучить взаимосвязи иммунологических, клинических и некоторых морфологических показателей в условиях немодифицированной аутогемохимиотерапии и ее модификации с помощью аутогемомагнитотерапии при местно-распространенном раке молочной железы.

8. Изучить возможность использования аутологичной лимфы онколо-

гических больных для генерации лимфокин-активированных киллеров.

Научная новизна работы. Впервые исследованы иммунологические аспекты методов химиотерапии злокачественных опухолей, предусматривающих экстракорпоральную инкубацию крови и лимфы с цитостатиками – аутогемохимиотерапии и аутолимфохимиотерапии (АГХТ и АЛХТ). Показана зависимость действия химиопрепаратов на свойства лимфоцитов при совместной инкубации от того, используется для этого кровь или лимфа, а также от вида и дозы цитостатика.

Впервые показан универсальный позитивный характер влияния АГХТ и АЛХТ на иммунную систему больных с опухолями различных локализаций, а также сходство иммуотропного действия этих методов химиотерапии.

Разработаны новые методы медикаментозной и немедикаментозной иммунокоррекции у онкологических больных, изучена их эффективность в качестве вариантов биотерапии, способных модифицировать ответ на АГХТ и АЛХТ.

Впервые изучена возможность применения новых препаратов (вилона, суперлимфа) для иммунокоррекции у онкологических больных, получающих различные виды противоопухолевого лечения (оперативное вмешательство, химиотерапию, лучевую терапию).

Впервые дана комплексная оценка действия *in vitro* переменного магнитного поля биотропных параметров на процессы пролиферации, активации, дифференцировки и осуществления эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, при этом обнаружена их стимуляция. Получено иммунологическое обоснование метода аутогемомагнитотерапии (АГМТ) в качестве немедикаментозного иммунокорректирующего модификатора неоадьювантной АГХТ при местно-распространенном раке молочной железы и легкого.

Новизна исследования подтверждена полученными патентами РФ № 2145239 («Способ лечения рака молочной железы», 2000), № 2178294 («Способ лечения рака молочной железы», 2000), № 2158588 («Способ лечения рака молочной железы», 2000), № 2188025 («Способ лечения рака молочной железы»,

2002), № 2180594 («Способ лечения неходжкинских лимфом», 2002), а также решениями патентной экспертизы о выдаче патентов на «Способ лечения рака яичника» по заявке №2001113377/14 (013905), приоритет от 15.05.01, решение о выдаче патента от 16.05.02; на «Способ лечения рака легкого» по заявке №99126204/14 (027807), приоритет от 14.12.99, решение о выдаче от 1.03.02; на «Способ лечения неходжкинских лимфом» № 2001127330/14 (029043), приоритет от 8.10.01, решение о выдаче патента от 4.01.03.

Теоретическое значение работы. Полученные результаты дают основание считать аутологичные жидкие ткани (кровь и лимфу) универсальными биологическими компонентами для проведения химиотерапии, иммунотерапии, магнитотерапии у онкологических больных.

Обобщение данных иммунологического исследования у онкологических больных в динамике аутогемохимиотерапии, аутоплазмохимиотерапии, аутолимфохимиотерапии позволяет говорить об отсутствии иммунодепрессивного действия этих методов, клиническая эффективность которых взаимосвязана с позитивной иммунологической динамикой у больных с различной локализацией и распространенностью процесса, что установлено при использовании различных цитостатиков и их схем для проведения химиотерапии на аутологичных биологических жидкостях. Применение в качестве терапии сопровождающих методов иммунокоррекции с экстракорпоральным действием иммунопрепаратов на аутолимфоциты способствует улучшению иммунологической динамики у больных злокачественными новообразованиями. Для такого метода иммунокоррекции у онкологических больных могут быть использованы различные иммуностимулирующие препараты (эпиталамин, ронколейкин, реаферон, Интрон А), а также немедикаментозный метод аутогемомагнитотерапии, предусматривающий экстракорпоральную обработку переменным магнитным полем аутологичной крови, основанием для чего являются полученные нами данные о его способности стимулировать функциональную активность иммунокомпетентных клеток крови.

Практическая значимость. Результаты работы позволили рекомендо-

вать применение новых методов химиотерапии на аутологичных биологических жидкостях (крови, плазме, лимфе) для лечения злокачественных новообразований различных локализаций, в том числе при наличии у больных иммунодепрессии. На основании полученных результатов предложен ряд методов медикаментозной и немедикаментозной иммунокоррекции для лечения иммунодефицитных состояний, в частности, при онкологических заболеваниях.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Проведение химиотерапии после преинкубации цитостатиков с аутологичными жидкими тканями (кровью, лимфой) и их компонентами (плазмой) не приводит к углублению иммунодефицитного состояния, свойственного онкологическим больным, в отличие от химиотерапии, проводимой на стандартных растворителях. Аутогемохимиотерапия и аутолимфохимиотерапия являются методами, способствующими улучшению или обеспечению сохранности показателей иммунного статуса у больных.

2. Позитивное действие аутогемохимиотерапии и аутолимфохимиотерапии на иммунный статус онкологических больных является универсальным и отмечается вне зависимости от локализации, распространенности опухолевого процесса и уровня исходной иммунодепрессии, а взаимосвязано с полученным клиническим эффектом.

3. Иммунокоррекция с экстракорпоральным воздействием иммунопрепаратами на аутолимфоциты является эффективным модификатором аутогемохимиотерапии при нелимфоидных и лимфопролиферативных злокачественных новообразованиях.

4. Экстракорпоральное воздействие переменным магнитным полем на кровь онкологических больных вызывает стимуляцию пролиферации, активации, дифференцировки и эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, что позволяет обосновать метод аутогемомагнитотерапии в качестве немедикаментозной иммунокоррекции при проведении аутогемохимиотерапии злокачественных опухолей.

Апробация работы. Материалы исследования доложены на IV и VI Все-

российских научных конференциях с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» в 2000 и 2002 гг., на научно-практической конференции Южного федерального округа «Актуальные проблемы клинической иммунологии, аллергологии и иммунореабилитологии» в Пятигорске в 2002 г., на заседаниях Общества иммунологов в г. Ростове-на-Дону. Апробация работы состоялась на заседании Ученого совета Ростовского научно-исследовательского онкологического института 20 марта 2003 г.

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 47 научных работах. По теме диссертации получено 5 патентов Российской Федерации и 3 решения патентной экспертизы о выдаче патентов.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 407 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 5 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, библиографии. Указатель литературы включает 697 работ, в том числе 433 отечественных и 264 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 81 таблицами и 67 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе использовали иммунологические, экспериментальные методы, модельные системы *in vitro*. Оценку иммунного статуса осуществляли у 625 больных солидными местно-распространенными и генерализованными злокачественными опухолями различных локализаций и у 110 больных лимфопролиферативными заболеваниями при проведении им следующих методов химиотерапии: на стандартных растворителях – изотоническом растворе, гемодезе, растворе глюкозы (СХТ); на аутологичной лимфе грудного протока после инкубации цитостатиков с 200-1500 мл лимфы в течение 30-45 минут при 37⁰ С – аутолимфохимиотерапия (АЛХТ); на аутологичной крови после инкубации цитостатиков с 150-200 мл крови при тех же условиях – аутогемохимиотерапия (АГХТ) и на аутологичной плазме после инкубации цитостатиков с 100 мл аутоплазмы при тех же условиях – аутоплазмохимиотерапия (АПХТ). Данные о

больных и применяемых методах химиотерапии представлены в таблице 1. Химиотерапию на аутологичных жидких тканях проводили по методам, разработанным академиком РАМН Ю.С. Сидоренко (1982, 1987, 1996). Поскольку в качестве модификаторов биологического ответа нами использовались иммунопрепараты, относящиеся к различным группам: препаратам альфа-интерферона (реаферон, Интрон А), цитокинам (ронколейкин, суперлимф), цитомединам (эпиталамин, вилон), а также воздействие переменным магнитным полем (ПеМП), были выделены соответствующие группы больных с аналогичными заболеваниями и распространенностью процесса (табл. 2). При местнораспространенных опухолях химиотерапия была неоадьювантной; при генерализованном раке молочной железы и лимфопролиферативных заболеваниях она являлась многокурсовой. Кроме того, изучали иммунный статус больных при применении иммуностропных препаратов или воздействий в послеоперационном периоде: больные раком вульвы после вульвэктомии, раком кожи и нижней губы с постлучевыми эпителиитами получали суперлимф; больным раком мочевого пузыря после радикальной операции проводилась магнитотерапия.

Таблица 1

Распределение клинического материала при использовании различных методов химиотерапии

Нозологические формы		Распространенность процесса	Методы лечения, кол-во больных			
			АЛХТ	АГХТ	АПХТ	СХТ
Солитарные опухоли	Рак легкого	местнораспространенный	30	33	-	12
	Колоректальный рак	местнораспространенный	-	30	-	-
	Рак орофарингеальной области	местнораспространенный	30	-	-	15
	Рак молочной железы	местнораспространенный	40	62	13	24
	Рак молочной железы	генерализованный	-	26	-	17
Лимфолиферативные заболевания	Лимфогранулематоз	II А, Б	-	7	-	7
	Лимфогранулематоз	III А, Б	-	15	-	6
	Лимфогранулематоз	IV А, Б	-	8	-	7
	Неходжкинские лимфомы	III	-	10	-	10
	Неходжкинские лимфомы	IV	-	10	-	10

Распределение клинического материала при использовании различных методов химиотерапии, модифицированных иммуностропными воздействиями

Нозологические формы	Распространенность процесса	Методы химиотерапии	Иммуностропные препараты или воздействия, кол-во больных				
			Эпиталамин	Вилон	Реаферон	Интрон А	АГМТ
Рак легкого	местно-распространенный	АГХТ	-	-	-	-	21
Рак молочной железы	местно-распространенный	АГХТ	15	-	-	-	47
Рак молочной железы	местно-распространенный	АПХТ	15	-	-	-	-
Рак молочной железы	генерализованный	АГХТ	-	-	31	-	-
Рак молочной железы	генерализованный	СХТ	-	17	-	-	-
Неходжкинские лимфомы	III, IV	АГХТ	-	-	-	20	-

Для оценки иммунного статуса и состояния иммунокомпетентных клеток при действии различных факторов *in vitro* нами были использованы методы, позволяющие охарактеризовать основные процессы, протекающие в иммунной системе: пролиферацию, дифференцировку, активацию, эффекторные функции Т-, В-, НК-лимфоцитов и макрофагов (Чередеев А.Н., Ковальчук Л.В., 1997). Исследовали количественное содержание Т- и В-лимфоцитов и различных субпопуляций (CD2+, CD3+, CD4+, CD8+, CD11b+, CD16+, CD20+, CD25+, HLA-DR+) в непрямом иммунофлюоресцентном тесте с моноклональными антителами (Фримель Х., 1987; Хаитов Р.М. и соавт., 1995). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) вычисляли по формуле CD4+/CD8+. Функциональную активность Т- и В-лимфоцитов оценивали в реакции бласттрансформации (РБТЛ) с митогенами (ФГА, КонА, ЛПС) (Фримель Х., 1987). Функцию НК-клеток определяли в цитотоксическом тесте (ЦТТ) с культурой клеток-мишеней эритромиелолойкоза человека K562 при соотношении клеток-мишеней и клеток-эффекторов 1:40.

Индекс цитотоксичности (ИЦ) вычисляли по формуле:

$$ИЦ = \frac{O - K}{K}, \text{ где } O - \text{ процент погибших клеток-мишеней в присутствии кле-}$$

ток-эффекторов (опыт); K – процент погибших клеток-мишеней в присутствии среды (контроль).

Производство ИЛ-2 и подобных ему ростовых факторов исследовали по стимуляции супернатантами культуры клеток-продуцентов этого цитокина (Т-лимфобластов линии Jurkat) пролиферации мышинных тимоцитов и спленоцитов, престаимулированных субоптимальной концентрацией КонА. Производство ИЛ-1 β и TNF- α моноцитами изучали при постановке ИФА с супернатантами нестимулированных и стимулированных ЛПС мононуклеаров периферической крови, культивируемых в течение 24 часов в полной культуральной среде (Хамблин А., О'Гарра А., 1990; Гольдберг Е.Д. и соавт., 1992). Индексы стимуляции (ИС) вычисляли по формулам:

$$ИС = \frac{\text{стим.РБТЛ}}{\text{спонт.РБТЛ}}; \quad ИС = \frac{\text{ЛПС(TNF-}\alpha\text{)}}{\text{спонт. (TNF-}\alpha\text{)}}; \quad ИС = \frac{\text{ЛПС(IL-1}\beta\text{)}}{\text{спонт. (IL-1}\beta\text{)}}$$

Проводили оценку макрофагального и нейтрофильного фагоцитоза, интенсивности кислородо-зависимых метаболических реакций (по результатам НСТ-теста), показателя макрофагальной трансформации моноцитов (ПМТМ), уровня экспрессии рецепторов к Fc-фрагментам IgG и к C3-компоненту комплекса (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Михеенко Т.В. и соавт., 1991).

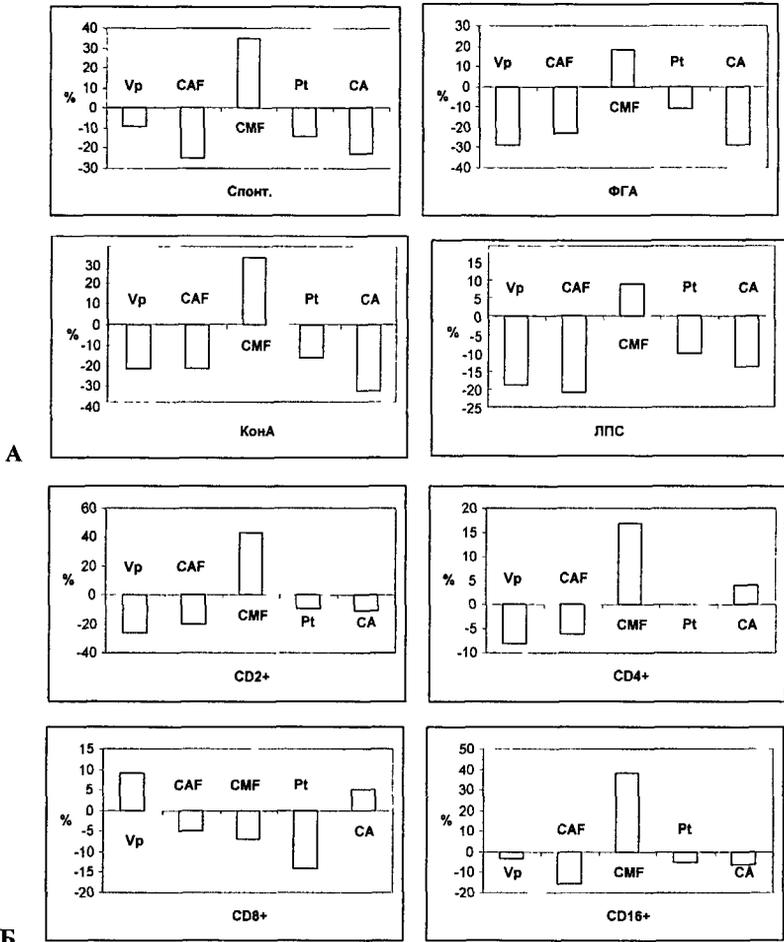
При изучении действия ПеМП на иммуногенность эритроцитов барана (ЭБ) моделировали первичный иммунный ответ на белых крысах-самцах массой 150-200 г путем однократного внутрибрюшинного введения 5% ЭБ в количестве 0,5 мл на 100 г массы. Интенсивность иммунного ответа оценивали на 5-е сутки по подсчету спленокариоцитов, содержанию антителообразующих клеток селезенки (АОК), определяемых в тесте прямого локального гемолиза (Cunningham A.J., 1964), по продукции антиэритроцитарных антител (гемолизинов), а также на основании морфологического и морфометрического изуче-

ния лимфоидных органов (тимуса, селезенки, мезентериальных лимфатических узлов). Воздействие ПеМП различных частотных и индукционных характеристик на эритроциты барана, а также кровь и лимфу онкологических больных осуществляли с помощью генераторов «Градиент-1» и «Спектр-2».

Для статистической обработки использовали параметрические (Стьюдент-Фишер) и непараметрические (Уилкоксон-Манн-Уитни) методы; корреляционный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение

Поскольку необходимым этапом АГХТ и АЛХТ является совместная инкубация крови и лимфы с химиопрепаратами, нами было проведено исследование действия цитостатиков (метотрексата, доксорубицина, вепезида, платидиама, 5-фторурацила) и их стандартных сочетаний (СА, САФ, СМФ) на иммунобиологическое состояние лимфоцитов крови и лимфы онкологических больных в модельных системах *in vitro*. При совместной инкубации цитостатиков с кровью и лимфой был выявлен различный характер влияния этих препаратов на процессы пролиферации, дифференцировки и осуществления эффекторных функций иммунокомпетентных клеток. Анализ полученных результатов продемонстрировал, что действие цитостатиков на эти процессы в лимфоцитах больных местно-распространенными опухолями зависит от вида и концентрации химиопрепаратов. Максимальным повреждающим эффектом на пролиферацию обладают доксорубин (и содержащие его схемы – СА, САФ) и вепезид, которые подавляют РБТЛ на 20-35% от исходного фона (рис. 1 А). Их влияние на процессы дифференцировки лимфоцитов крови менее выражено (снижение экспрессии рецепторов на Т-лимфоцитах составляет 5-8% и не является статистически значимым, кроме рецептора CD2+, экспрессия которого подавляется на 20% под действием вепезида и САФ) (рис. 1 Б). При этом изменений эффекторных свойств естественных киллеров не отмечено.



VP – везпид; CAF – циклофосфан, доксорубин, 5-фторурацил;
 CMF – циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил;
 Pt – платидиам; CA – циклофосфан, доксорубин

Рис. 1. Сравнительная характеристика иммунобиологических свойств лимфоцитов крови онкологических больных после обработки различными цитостатиками (% от исходного фона): А – пролиферация; Б – дифференцировка.

При изучении действия цитостатиков на состояние лимфоцитов больных с различной локализацией и распространенностью процесса были получены сходные изменения. Так, доксорубин одинаково угнетает пролиферативную активность лимфоцитов больных местно-распространенным и генерализованным раком молочной железы (на 22-39% и на 23-35% соответственно), а также больных местно-распространенным раком молочной железы и легкого (на 22-39% и на 30-35% соответственно). Аналогичная направленность действия отмечена при исследовании лимфоцитов крови больных лимфогранулематозом: инкубация с доксорубином подавляет их пролиферацию на 20-30%; процессы дифференцировки снижаются незначительно.

В отличие от доксорубина и вепезида, низкие концентрации метотрексата и платидиама не оказывают статистически значимого угнетающего действия на исследуемые функции лимфоцитов крови, а инкубация с 5-фторурацилом и препаратами по схеме CMF даже стимулирует их (рис. 1 А, Б).

Сравнительное изучение действия цитостатиков на иммунобиологическое состояние лимфоцитов крови и лимфы больных показало, что лимфоциты лимфы более чувствительны к их повреждающему действию (рис. 2).

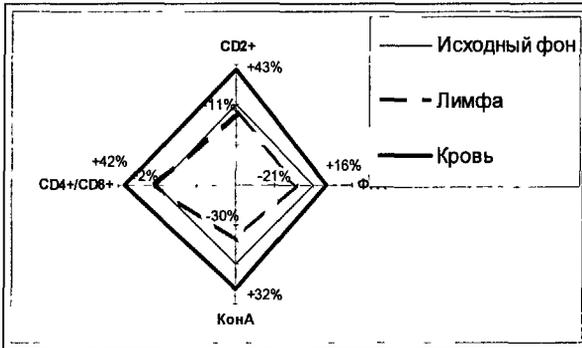


Рис. 2. Сравнительная характеристика иммунобиологических свойств лимфоцитов лимфы и крови после обработки химиопрепаратами по схеме CMF (% от исходного фона).

Так, концентрации платидиама (0,3-0,8 мг/мл) и метотрексата (0,03-0,1 мг/мл) подавляют пролиферативную активность лимфоцитов лимфы, не влияя при этом на лимфоциты крови. Учитывая возможность взятия у больных большого объема лимфы при дренировании грудного протока, мы проводили инкубацию платидиама с ее различными объемами, в ходе чего формировались разные концентрации цитостатика; при этом высокие концентрации (0,3-0,8 мг/мл) вызывали снижение пролиферации и дифференцировки лимфоцитов лимфы на 16-29%, а низкие (0,05-0,125 мг/мл) стимулировали Кона-индуцированную пролиферацию на 43%. Поэтому при проведении АЛХТ представляется целесообразным для обеспечения сохранности лимфоцитов лимфы использовать ее максимально доступные объемы (1000-1500 мл). При проведении АГХТ, из-за ограниченности объема крови, такой способ является неприемлемым; по нашим данным, в этом случае возможностью снижения токсического действия химиопрепаратов на лимфоциты может служить обработка крови (с внесенным в нее цитостатиком) ПеМП. Нами установлено, что такое воздействие нивелирует угнетение пролиферации лимфоцитов в РБТЛ, вызванное доксорубицином (рис. 3). Поскольку известно, что ПеМП способно повышать сорбционные свойства эритроцитов, мы полагаем, что химиопрепарат в этих условиях более интенсивно связывается с ними, что препятствует проявлению его повреждающего действия на лимфоциты.

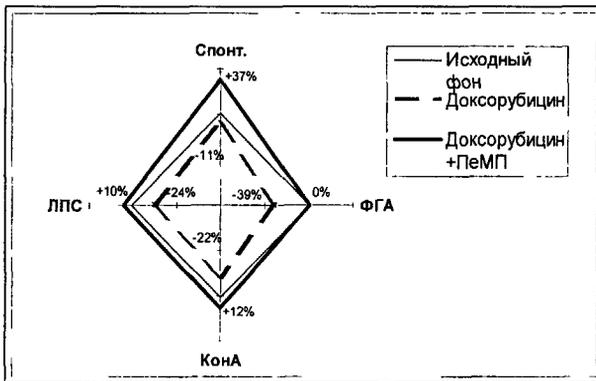


Рис. 3. Влияние обработки крови доксорубицином и ПеМП на функциональную активность лимфоцитов крови (% от исходного фона).

На следующем этапе исследования нами была проведена оценка иммунного статуса онкологических больных, получающих химиотерапию на аутологичных биологических жидкостях (крови и лимфе) по поводу злокачественных опухолей различных локализаций (табл. 1).

Исходный иммунный статус больных характеризовался вторичным иммунодефицитным состоянием: наблюдалось выраженное подавление функциональной активности лимфоцитов, естественной цитотоксичности НК-клеток, субпопуляционный дисбаланс Т-лимфоцитов, связанный прежде всего с дефицитом CD4+ клеток. При изучении динамики иммунного статуса больные, получавшие химиотерапию на аутологичных жидких тканях, были разделены в зависимости

1. От локализации процесса
2. От его распространенности
3. От уровня исходных иммунологических показателей
4. От полученного клинического эффекта АГХТ и АЛХТ

Группы сравнения составляли больные, аналогичные по полу, возрасту, распространенности процесса, которые получали СХТ с использованием тех же цитостатиков. Большинство больных при наличии местно-распространенных опухолей (рак молочной железы, орофарингеальной области, легкого, толстой кишки) подвергались неoadъювантной химиотерапии (1-2 курса), часть больных (с генерализованным раком молочной железы и лимфопролиферативными заболеваниями) получала многокурсовую химиотерапию (5-6 курсов). Оценка иммунного статуса у больных при неoadъювантной АГХТ и АЛХТ показала сходный, причем в обоих случаях положительный характер влияния на исследуемые показатели, в отличие от СХТ, которая вызывала их угнетение.

Так при проведении АЛХТ у больных местно-распространенным раком легкого, молочной железы и орофарингеальной области все показатели иммунного статуса были статистически достоверно выше, чем у больных, получавших СХТ (рис. 4).

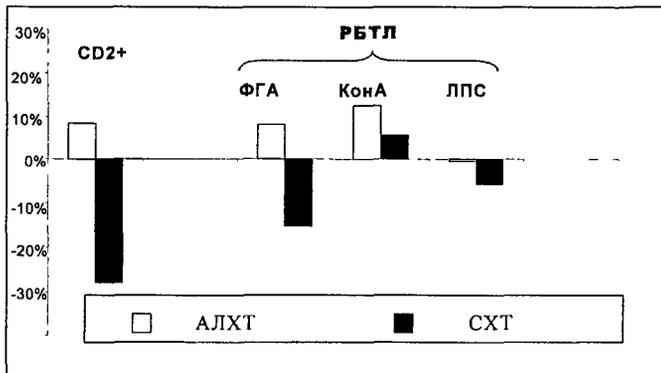


Рис. 4. Сравнительная характеристика иммунного статуса у больных местно-распространенным раком легкого при проведении СХТ и АЛХТ (% от исходного фона).

Анализ иммунологических показателей в зависимости от клинического эффекта продемонстрировал их однонаправленность, то есть, высокая степень регрессии опухоли под действием неoadъювантной АЛХТ сопровождалась положительными иммунологическими изменениями: повышением количества Т-лимфоцитов, включая их субпопуляции. Так, при полной регрессии опухоли (>75%) у больных раком орофарингеальной области под действием АЛХТ наблюдалось статистически достоверное возрастание уровня Т-лимфоцитов за счет как CD4+, так и CD8+ клеток; частичная (50%) регрессия не вызывала изменений иммунного статуса, а при стабилизации, видимо, оставшаяся опухоль продолжала быть источником иммунодепрессии, приводя к снижению содержания Т-лимфоцитов (табл.3). Аналогичные особенности иммунологической динамики у больных с различным клиническим эффектом наблюдались нами при АЛХТ местно-распространенного рака молочной железы и легкого. Так, при полной и частичной регрессии опухоли у больных раком молочной железы уровень CD2+ клеток составил $53,3 \pm 3,0\%$, а при отсутствии регрессии – только $33,0 \pm 3,5\%$ ($P < 0,05$).

Взаимосвязь полученных иммунологических изменений и исходного фона показателей является характеристикой многих препаратов, способных вли-

ять на иммунный статус, в частности, она присуща иммуномодуляторам. Такая закономерность была получена нами при проведении химиотерапии на аутологичной лимфе и крови: на примере рака молочной железы и легкого у больных, получавших АЛХТ, было показано, что при низких исходных параметрах благоприятные изменения были более выражены, чем при исходно высоких данных. Так, уровень CD2+ лимфоцитов у больных с исходно низкими значениями возрос с $44,0 \pm 1,9$ до $50,5 \pm 2,3\%$, а при исходно высоких не менялся. Полученная зависимость описывается законом Вильдера-Лейтеса и свидетельствует о том, что исходно резко сниженные показатели иммунного статуса не являются противопоказанием для проведения АЛХТ.

Таблица 3

Динамика иммунного статуса у больных раком орофарингеальной области при АЛХТ с различным клиническим эффектом

Регрессия опухоли	Сроки исследования	Иммунологические показатели, %					
		CD2+	CD4+	CD8+	$\frac{CD4+}{CD8+}$	CD16+	CD20+
>75%	До лечения	44,8 $\pm 2,5$	23,38 $\pm 1,89$	19,78 $\pm 1,73$	1,19 $\pm 0,09$	16,9 $\pm 1,4$	18,6 $\pm 0,93$
	После лечения	51,0 $\pm 2,2^{* **}$	31,8 $\pm 2,74^{* **}$	25,8 $\pm 2,2^*$	1,24 $\pm 0,1$	20,75 $\pm 2,8$	16,3 $\pm 2,1$
>50%	До лечения	51,0 $\pm 3,6$	29,7 $\pm 3,29$	23,9 $\pm 2,97$	1,26 $\pm 0,11$	19,4 $\pm 2,35$	18,7 $\pm 1,1$
	После лечения	46,1 $\pm 2,1$	27,25 $\pm 2,53$	23,75 $\pm 3,93$	1,25 $\pm 0,07$	17,5 $\pm 1,96$	17,0 $\pm 0,84$
>25%	До лечения	50,4 $\pm 1,09$	28,8 $\pm 3,25$	20,9 $\pm 1,56$	1,37 $\pm 0,08$	20,5 $\pm 3,76$	18,4 $\pm 1,8$
	После лечения	41,0 $\pm 3,0^{* **}$	25,0 $\pm 1,2^{**}$	24,0 $\pm 1,3$	1,126 $\pm 0,08^*$	20,5 $\pm 2,2$	17,0 $\pm 2,0$

Примечание. * – статистически достоверные отличия от исходных данных ($P < 0,05$);
** – статистически достоверные различия между группами ($P < 0,05$).

Итак, несмотря на то, что при инкубации *in vitro* лимфы с цитостатиками лимфоциты более подвержены повреждающему действию этих препаратов, чем лимфоциты крови, иммунологическая динамика у больных с различными локализациями злокачественных новообразований, получавших АЛХТ, носит благоприятный характер, в отличие от групп, подвергавшихся СХТ. Это можно

объяснить тем, что при АЛХТ в связи с взятием большого объема лимфы происходит обновление пула рециркулирующих лимфоцитов за счет выхода из лимфоидных органов, а также возможной тропностью лимфоцитов лимфы, связавших химиопрепарат, к лимфатическим узлам, пораженным метастазами.

Проведение неoadъювантной химиотерапии на аутологичной крови и ее компонентах приводит к более значительной сохранности иммунного статуса по сравнению с СХТ как при обычных, так и при дозо-интенсивных схемах. При местно-распространенном раке молочной железы АГХТ и АПХТ по схемам СМАV и СМFV обеспечивают статистически достоверно более высокие иммунологические показатели по сравнению с группой, получавшей СХТ (рис. 5). Отмечены те же закономерности, что и при АЛХТ, в плане взаимосвязи динамики иммунного статуса с исходными показателями и с полученным клиническим эффектом: при полной и частичной регрессии опухоли у больных, получавших АГХТ, уровень CD4+ клеток составлял $(0,48 \pm 0,04) \times 10^9/\text{л}$, а при отсутствии регрессии опухоли – $(0,25 \pm 0,05) \times 10^9/\text{л}$; соответствующие данные для уровня CD2+ клеток составляли $(0,73 \pm 0,08) \times 10^9/\text{л}$ и $(0,34 \pm 0,04) \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($P < 0,05$).

У больных, подвергавшихся комплексному лечению, включающему неoadъювантную АГХТ (СМF), по поводу колоректального рака, также наблюдалась положительная динамика иммунного статуса в сопоставлении с группой сравнения, несмотря на то, что при опухолях этой локализации, малочувствительных к химиотерапии на стандартных растворителях, группу сравнения составили больные, в лечении которых был использован только хирургический метод и полностью отсутствовала нагрузка химиопрепаратами: например, содержание CD4+ клеток составляло $(0,38 \pm 0,04) \times 10^9/\text{л}$ и $(0,26 \pm 0,03) \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($P < 0,05$).

Больные генерализованным раком молочной железы получали до 5-6 курсов АГХТ. Несмотря на транзиторное снижение у них некоторых иммунологических показателей, к концу лечения динамика приобретала благоприят-

ный характер, выражающийся не только в восстановлении, но и в возрастании по сравнению с исходным фоном лимфоцитов основных субпопуляций: CD4+, CD8+, CD16+ (с $27,5 \pm 2,5$ до $40,0 \pm 2,0\%$; с $21,5 \pm 3,5$ до $29,0 \pm 0,5\%$; с $17,5 \pm 1,5$ до $22,0 \pm 2,0\%$ соответственно ($P < 0,05$)), а также функциональной активности лимфоцитов.

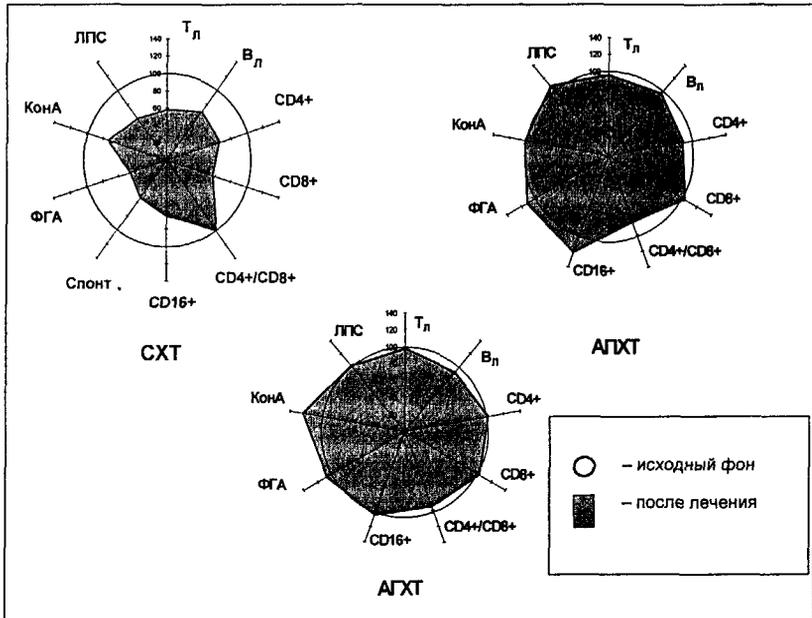


Рис. 5. Сравнительная характеристика иммунного статуса больных местнораспространенным раком молочной железы при различных методах неoadъювантной химиотерапии ($\times 10^9/\text{л}$; % от исходного фона).

Лечение больных лимфопролиферативными заболеваниями также предусматривает многокурсовую химиотерапию. После окончания 5-6 курсов АГХТ больным лимфогранулематозом и неходжкинскими лимфомами у них были выявлены положительные иммунологические изменения. Сопоставление исследуемых параметров с группами больных, получавших СХТ, было и в этих случаях в пользу АГХТ (рис. 6).

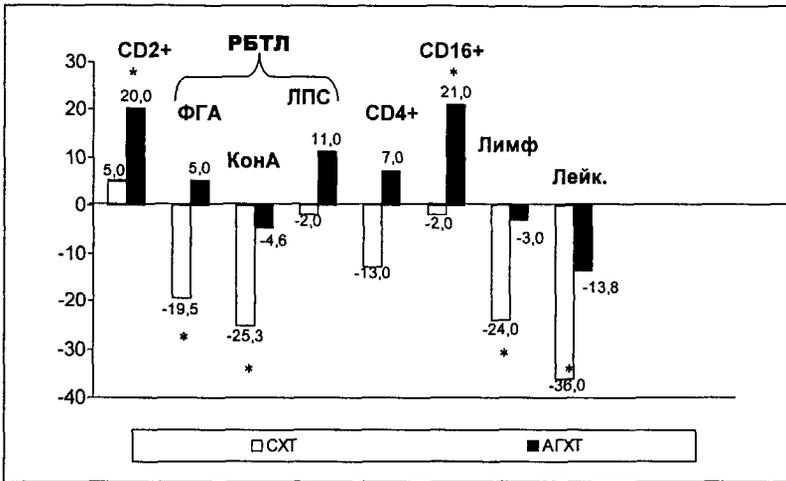


Рис. 6. Иммунный статус больных неходжкинскими лимфомами после 5 курсов АГХТ и СХТ (% от исходного фона). * - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Следует отметить, что проведение АГХТ вызывало аналогичную направленность динамики иммунного статуса у больных с разной распространенностью процесса. Так при лимфогранулематозе иммунологические изменения носили благоприятный характер как при II и III, так и при IV стадиях (рис. 7).

Таким образом, как неoadьювантная АЛХТ, так и 1-2 курсовая, а также многокурсовая АГХТ не вызывают иммунодепрессии, а способствуют благоприятным изменениям иммунного статуса, в отличие от СХТ. АГХТ и АЛХТ с использованием одинаковых цитостатиков и их доз у больных с одинаковой локализацией процесса вызывают сходные иммунологические изменения. У больных с различными локализациями опухолей, а также при солидных и лимфопрлиферативных заболеваниях химиотерапия на аутологичных жидких тканях вызывает аналогичную динамику. При различной распространенности опухолей одной локализации наблюдаются однонаправленные иммунологические изменения. При исходной иммунодепрессии, например, вследствие выраженной распространенности процесса, у больных, получавших АГХТ и АЛХТ, не отмечено негативных изменений иммунного статуса. Мы связываем получен-

ные результаты с тем, что при АЛХТ и АГХТ достигается выраженный клинический эффект, оцениваемый по регрессии опухоли, что приводит к уменьшению опухолевой иммунодепрессии и способствует положительным иммунологическим изменениям.

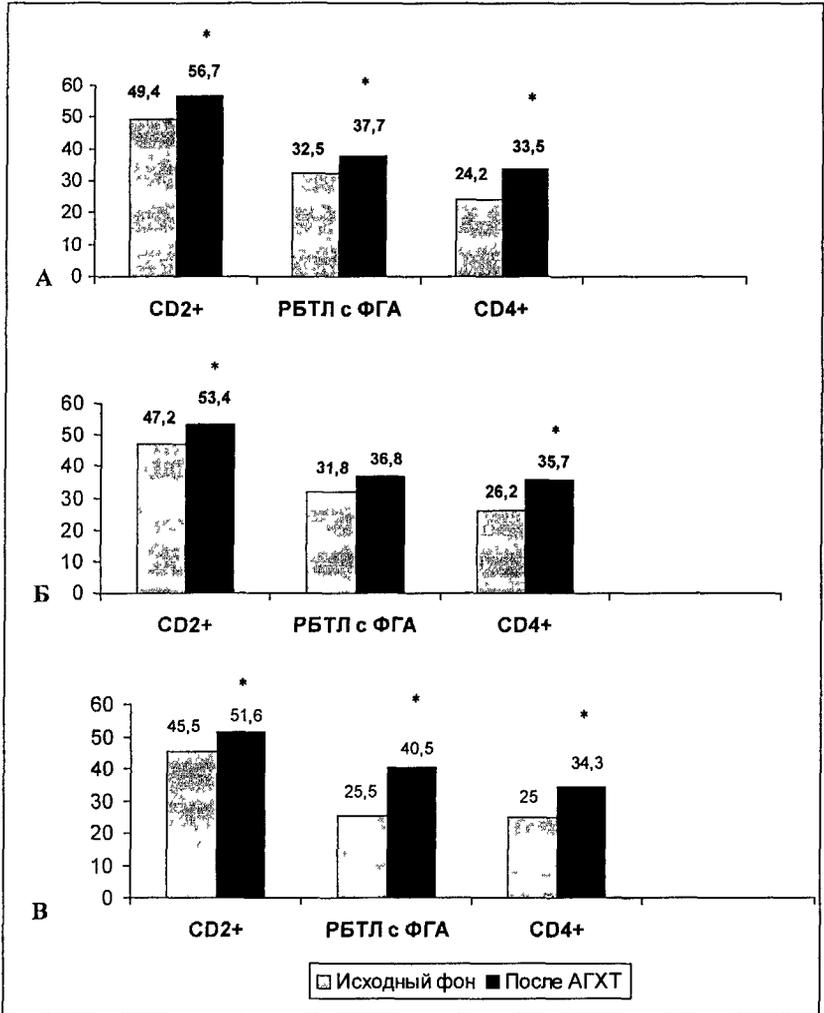


Рис. 7. Влияние АГХТ на иммунный статус больных лимфогранулематозом различных стадий (%): А – II А, Б стадия; Б – III А, Б стадия; В – IV А, Б стадия.

* - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Поскольку иммунологические нарушения играют существенную роль в патогенезе злокачественных новообразований, и, как сама опухоль, так и многие методы лечения нередко являются токсичными для иммунной системы, проведение иммунокоррекции в качестве терапии сопровождения представляется целесообразным.

Нами был применен ряд иммунопрепаратов в комплексном лечении онкологических больных с различной локализацией опухоли. Их использование проводилось при следующих видах химиотерапии: неоадьювантной АГХТ и АПХТ местно-распространенного рака молочной железы, многокурсовой АГХТ генерализованного рака молочной железы и неходжкинских лимфом, при СХТ генерализованного рака молочной железы (табл. 2), а также при нарушении эпителизации кожи и слизистых после короткофокусной радиотерапии по поводу рака кожи и нижней губы и после вульвэктомии по поводу рака вульвы.

В организме опухоленосителя создаются условия иммунодепрессии, с чем связано подавление защитного потенциала иммунокомпетентных клеток и нарушение их ответа на вводимые извне иммуномодуляторы. Поэтому в настоящее время получили развитие методы адаптивной иммунотерапии, основанной на введении больным аутологических лимфоцитов, активированных экстракорпорально различными способами, прежде всего путем культивирования с цитокинами, например, с IL-2 (Новиков В.И. и соавт., 1999; Rosenberg S.A., 1997). Введение активированных аутоклеток и введение химиопрепаратов на аутологических биологических жидкостях представляется нам теоретически и методически близким и взаимодополняющим.

Нами были использованы иммунопрепараты, различные по происхождению и механизмам действия: цитомедины (эпиталамин и вилон), цитокины (ронколейкин, «цитокиновый коктейль» суперлимф), препараты интерферона-альфа (реаферон, ИнтронА). Было исследовано как их действие на основные свойства лимфоцитов крови и лимфы *in vitro*, так и влияние их введения на иммунный статус больных.

При инкубации эпителиальной клетки с клетками крови больных местнораспространенным раком молочной железы *in vitro* было выявлено, что его иммуностимулирующий эффект, видимо, проявляется не только на организменном уровне (через нейро-эндокринные механизмы, регуляцию циркадных ритмов, влияние на продукцию мелатонина и др.), но и на уровне межклеточных взаимодействий, на котором в значительной степени основано функционирование иммунокомпетентных клеток. Так инкубация эпителиальной клетки с лимфоцитами больных вызывает усиление их пролиферации, исходно резко сниженной; препарат обладает как собственным митогеноподобным эффектом, так и способностью стимулировать ответ лимфоцитов на Т- и В-митогены (на 27,7-30,0%). Рисунок 8 А иллюстрирует повышение экспрессии ряда дифференцировочных и активационных рецепторов на лимфоцитах, а рисунок 8 Б – увеличение исходно низкой цитотоксичности естественных киллеров после совместной инкубации крови с эпителиальным *in vitro*. Вклад в реализацию противоопухолевого действия могут вносить такие иммуностимулирующие эффекты эпителиальной клетки, как стимуляция NK- и CD8⁺ клеток, усиление пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, улучшение межклеточной кооперации.

Эти аспекты, наряду с хорошо известным позитивным влиянием эпителиальной клетки на гормональный, медиаторный и антиоксидантный статус, очевидно, дополняют эффект АГХТ и АПХТ, полученный при местнораспространенном раке молочной железы, что проявляется в повышении процента регрессии опухоли при снижении частоты и выраженности побочных реакций у больных, получавших эпителиальную клетку (100 мг на курс) после инкубации с аутокровью. Группами сравнения служили больные, подвергавшиеся аналогичной АГХТ и АПХТ без эпителиальной клетки. Установлено, что применение АГХТ с эпителиальным *in vitro* вызвало статистически достоверное повышение ряда количественных и функциональных показателей иммунного статуса как после 1-го, так и после 2-го курса лечения (рис. 9).

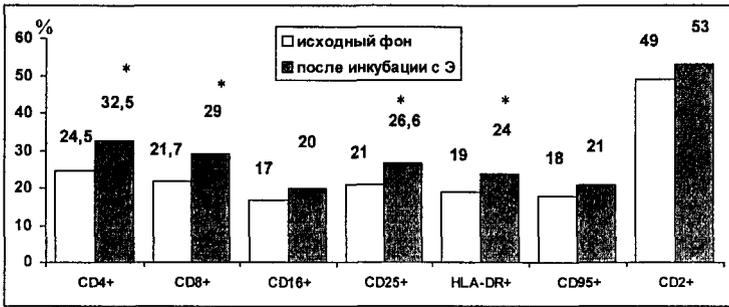


Рис. 8 А. Влияние инкубации с эпиталамином (Э) на экспрессию рецепторов на лимфоцитах крови больных раком молочной железы (%).

* - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

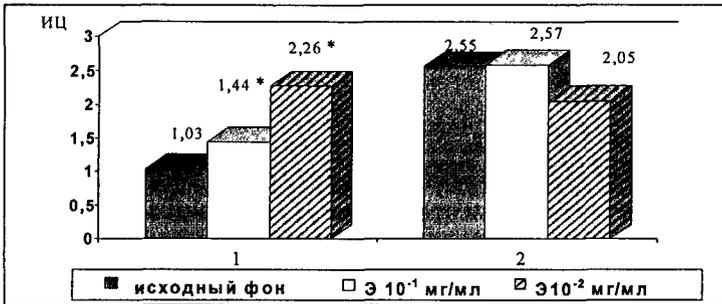


Рис. 8 Б. Влияние инкубации с эпиталамином (Э) на цитотоксичность НК-клеток в зависимости от исходного фона: 1 – исходно низкие значения ИЦ; 2 – исходно высокие и средние значения ИЦ.

* - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Проведение аутоплазмохимиотерапии (АПХТ), обладающей высоким клиническим эффектом, но сопровождающейся в значительной части случаев побочными реакциями, также осуществлялось совместно с введением эпиталамина на взвеси форменных элементов крови. При этом благоприятные иммунологические изменения достигались после 2-го курса неoadьювантной АПХТ, а при клиническом наблюдении отмечалось снижение побочных реакций (случаев лейкопении, анемии) и повышение эффекта (регрессии опухоли) по сравнению с группой больных, получавших АПХТ без эпиталамина. Итак, введение эпиталамина после инкубации с аутологичной кровью способствует как уменьшению

токсических реакций от химиотерапии, так и повышению эффективности методов химиотерапии на аутологичной крови и ее компонентах, в том числе и за счет иммунологической составляющей.

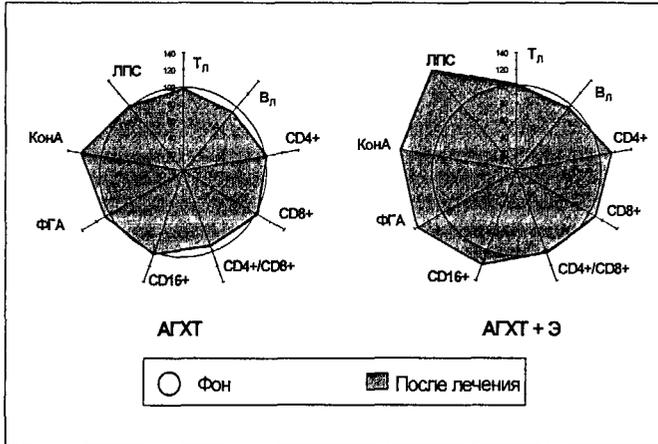


Рис. 9. Влияние АГХТ, модифицированной эпителиамином (Э), на иммунный статус больных местно-распространенным раком молочной железы ($\times 10^9/\text{л}$; % от исходного фона).

Использование иммуностропных препаратов, в частности, относящихся к цитомединам, в лечении онкологических больных может также эффективно сопровождать химиотерапию на стандартных растворителях. Нами было показано, что применение нового пептидного тимомиметика вилон способствует восстановлению показателей иммунного статуса у больных генерализованным раком молочной железы после проведения СХТ. У больных, получавших вилон, наблюдалось повышение уровня Т-клеток преимущественно за счет хелперно-индукторной субпопуляции (на 37%), а также содержания НК-клеток (на 30%).

Реаферон был использован нами в комплексе с АГХТ в качестве паллиативного лечения при генерализованном раке молочной железы, поскольку интерферон-альфа обладает способностью сенсibilизировать опухолевые клетки к действию цитостатиков, а также стимулировать цитотоксические звенья иммунной системы. Нами установлено, что совместная инкубация реаферона с ау-

токровью больных приводит к стимуляции адгезивных свойств Т-лимфоцитов и их функциональной активности, которая была исходно резко снижена вплоть до полной утраты способности к митоген-индуцированной пролиферации. Поскольку лечение генерализованного рака молочной железы представляет собой многокурсовую химиотерапию по схемам, содержащим доксорубин, который, как было показано выше, обладает агрессивными свойствами по отношению к лимфоцитам крови, мы одновременно с АГХТ в качестве модификатора биологического ответа использовали реаферон после инкубации с аутокровью. Разовые дозы препарата составляли 9-15 млн. МЕ; курсовые – 30-45 млн. МЕ. При изучении иммунологических изменений у больных была отмечена позитивная динамика таких показателей, как уровень цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), повысившийся на 32%, и функциональной активности Т-клеток в РБТЛ с ФГА по сравнению с группой, получавшей немодифицированную АГХТ (индексы стимуляции возросли на 38,5%). Клинический эффект (процент больных, достигших полной или частичной ремиссии, продолжительность и качество их жизни) также были выше при использовании АГХТ с реафероном.

Другой препарат интерферона-альфа (Инtron А) был применен аналогичным образом в курсе АГХТ у больных неходжкинскими лимфомами. При этом динамика иммунного статуса отличалась в благоприятную сторону не только от больных, получавших СХТ, но и от больных, которым проводили АГХТ без Интрона А: наблюдался более высокий уровень содержания лимфоцитов с рецепторами CD8+ и CD16+ (32,5±1,39 и 22,2±1,63% соответственно), тогда как у больных, подвергавшихся немодифицированной АГХТ, эти показатели составляли 25,5±1,47 и 15,8±2,49% соответственно (P<0,05).

Ронколейкин – препарат рекомбинантного интерлейкина-2 (IL-2) – был исследован в плане возможности его применения после экстракорпорального культивирования с ним лимфоцитов аутологичной лимфы больных раком яичника при проведении АЛХТ. Кратковременная совместная инкубация привела к увеличению экспрессии CD8+ рецепторов на Т-лимфоцитах, что может свиде-

тельствовать о стимулирующем влиянии препарата на уже имеющиеся в лимфе CTL. 24- и 48-часовое культивирование лимфоцитов в присутствии ронколейкина вызвало выраженную стимуляцию пролиферации Т-клеток, митогенный ответ особенно существенно повышался через 48 часов (рис. 10 А). В те же сроки обнаружено увеличение продукции IL-2 Т-лимфоцитами линии Jurkat, что полностью соответствует представлениям об аутокринной регуляции продукции этого цитокина стимулированными CD4+ клетками. В свою очередь IL-2, как известно, является фактором роста для цитотоксических клеток и играет важную роль в осуществлении их эффекторной активности, при этом происходит трансформация естественных киллеров в LAK-клетки с более высокой цитотоксичностью. Нами не было получено дозо-зависимого эффекта, то есть ронколейкин в концентрациях 5, 50 и 5000 МЕ/мл вызывал аналогичную гибель клеток-мишеней, что позволяет проводить поиск оптимальных доз препарата в достаточно широких пределах, включая область низких доз (рис. 10 Б).

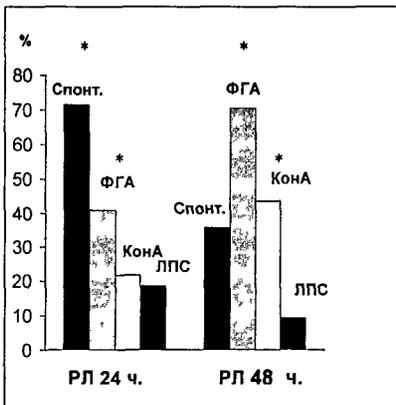


Рис. 10 А. Влияние ронколейкина (РЛ) на функциональную активность лимфоцитов лимфы больных раком яичника (% от исходного фона).

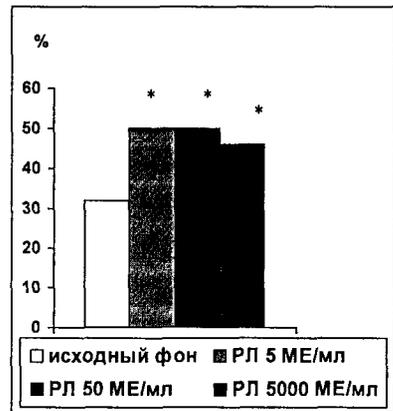


Рис. 10 Б. Влияние ронколейкина (РЛ) на цитотоксичность NK-клеток (% гибели клеток-мишеней K562).

* - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Было также установлено прямое цитотоксическое действие ронколейкина на культуру K562 и сенсibiliзирующий эффект – способность повышать ее чувствительность к лизису ЛАК-клетками. Полученные нами результаты говорят о возможности успешной ЛАК-терапии при раке яичника, которая представляется особенно целесообразной в сочетании с АЛХТ, так как ЛАК-клетки наиболее интенсивно проникают в опухолевую ткань после введения цитостатиков.

Иммунная система, как известно, участвует не только в формировании специфического ответа на антигены, но и в регуляции многих процессов, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз, регенерация, причем не только в лимфоидной системе, но и во многих органах и тканях. Эти процессы осуществляются с помощью цитокинов, мишенью некоторых из них служат фибробласты, остеокласты, хондроциты, коллаген и др. Препарат суперлимф является комплексом цитокинов, продуцируемых активированными моноцитами и Т-лимфоцитами (IL-1, IL-2, IL-6, MIF, TNF- α , TGF- β); обладает ранозаживляющими и иммуностропными свойствами (Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., 1995). Нами было обнаружено стимулирующее действие суперлимфа на активность естественных киллеров при обработке лимфоцитов крови *in vitro*, сопоставимое с действием других изученных иммунопрепаратов. Использование его в виде мазевых аппликаций у больных с трофическими нарушениями кожи и слизистых оболочек после короткофокусной радиотерапии (КФР) по поводу рака кожи, а также после вульвэктомии, привело к развитию клинического эффекта в обоих случаях, в частности, после КФР сроки эпителизации дефекта уменьшались в 2-2,5 раза (с 37 ± 4 до 14 ± 3 дней). Действие суперлимфа на иммунный статус выражалось в стимуляции функций макрофагов и Т-лимфоцитов (табл. 4), особенно страдающих при лучевой терапии.

**Влияние применения суперлимфа на иммунный статус
больных после вульвэктомии**

Показатели	До операции	После лечения	
		Основная группа (суперлимф)	Группа сравнения
CD2+, %	47,7±1,6	53,5±1,8*	49,2±4,2
CD20+, %	16,9±0,5	18,8±0,54*	19,2±1,86
CD4+/CD8+	1,05±0,079	1,48±0,14*	1,3±0,28
ИЦ	2,1±0,147	3,0±0,18***	2,3±0,29
ПМТМ, %	43,1±1,38	53,0±3,5***	40,0±1,5

Примечание. * – статистически достоверные отличия от исходного фона (P<0,05);
** – статистически достоверные отличия от данных группы сравнения (P<0,05).

Итак, применение иммунопрепаратов для терапии сопровождения при использовании в качестве основного противоопухолевого лечения оперативного вмешательства, лучевой терапии и химиотерапии, в частности, при введении цитостатиков на аутологичных биологических жидкостях, приводит к позитивным иммунологическим изменениям у больных злокачественными новообразованиями различных локализаций и стадий. Показатели иммунного статуса у больных местно-распространенным и генерализованным раком молочной железы и неходжкинскими лимфомами демонстрировали благоприятные изменения после применения на аутологичной крови эпиталамина, препаратов альфа-интерферона; преинкубация крови онкологических больных с этими препаратами приводит к стимуляции функций иммунокомпетентных клеток, что позволяет обосновать их использование после экстракорпоральной обработки ими аутокрови. Учитывая, что для достижения эффекта в ряде случаев представляется необходимым применение значительного количества активированных лимфоцитов, их перспективным источником может быть не только кровь, но и лимфа грудного протока.

Иммуноткоррекция с применением экстракорпоральной обработки аутологичных лимфоцитов может быть не только медикаментозной, но и связанной с действием различных физических факторов. Однако, в отличие от методов,

предполагающих использование цитокинов, немедикаментозные варианты подобной иммунокоррекции не получили подробного и последовательного обоснования. Электромагнитные факторы, в частности, ПеМП биотропных параметров, способны оказывать благоприятное действие на различные органы и системы организма, в том числе, опухоленосителей, за счет антистрессорной, противовоспалительной, ранозаживляющей и других видов биологической активности, что было показано в экспериментальных и клинических исследованиях (Гаркави Л.Х. и соавт., 1998; Шихлярова А.И., 2001).

Мы изучали влияние ПеМП на иммунный статус больных раком мочевого пузыря в послеоперационном периоде после радикальной операции. Больным проводили магнитотерапию (МТ) в виде двойного воздействия (на затылочную область в проекции гипоталамуса и на область послеоперационной раны); оценку иммунного статуса проводили до и через 2 недели после операции. Группа сравнения подвергалась аналогичной операции без МТ. Результаты представлены в таблице 5, из которой видно, что у больных, получавших МТ, развиваются благоприятные иммунологические изменения, в отличие от больных группы сравнения. Проведение МТ приводило к статистически достоверному повышению уровня CD4+, CD16+, CD20+ клеток, иммунорегуляторного индекса, общего количества лимфоцитов и моноцитов. Наши результаты показали, что МТ, проведенная после операции, оказывает иммунокорректирующий эффект, что ассоциируется с более благоприятным течением послеоперационного периода.

Учитывая возможность изменения иммунобиологических свойств лимфоцитов при непосредственном действии на них различных факторов электромагнитной природы, в частности, вышеописанные данные о протекторном действии ПеМП на лимфоциты при обработке крови доксирубицином, мы применили в комплексном лечении онкологических больных введение аутологичной крови после экстракорпорального воздействия на нее ПеМП. Предварительно было проведено изучение влияния ПеМП различных частотных и индукционных характеристик на свойства клеток крови.

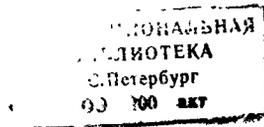
**Влияние магнитотерапии на иммунный статус больных раком мочевого пузыря
после радикального хирургического лечения**

Иммуно- логические пока- затели, %	Сроки исследования		
	До лечения	После операции	
		основная группа	группа сравнения
CD2+	48,2±2,4	53,27±3,89	49,44±2,17
CD4+	24,8±1,5	31,4±1,79**	25,14±0,77
CD8+	21,7±1,3	23,00±1,66	22,14±0,77
CD4+/CD8+	1,14±0,06	1,4±0,07***	1,17±0,08
CD16+	16,5±1,31	21,3±1,17***	15,6±1,09
CD20+	15,0±1,05	20,6±0,86***	16,80±0,91
Лимфоциты	18,8±1,3	26,5±1,44***	19,8±1,57
Моноциты	7,25±0,55	7,38±0,46**	5,7±0,12*

Примечание. * – статистически достоверные отличия от исходных данных (P<0,05);
** – статистически достоверные отличия от данных группы сравнения (P<0,05).

Воздействие ПеМП на клетки красной и белой крови вызвало ряд изменений их иммунологических характеристик. Так, омагничивание гетерологичных эритроцитов привело к повышению их иммуногенности, что было установлено нами на модели первичного иммунного ответа. У крыс, иммунизированных эритроцитами барана, обработанными ПеМП, наблюдалось повышение содержания спленокариоцитов и антителопродуцентов селезенки, титров анти-эритроцитарных антител (гемолизинов) в сыворотках по сравнению с контрольной группой, иммунизированной интактными эритроцитами барана; аналогичные различия отмечены при проведении морфологического и морфометрического исследования лимфоидных органов, в частности, тимуса, животных обеих групп (табл. 6).

Обработка ПеМП крови больных местно-распространенным раком молочной железы и легкого вызвала повышение фагоцитарной активности, усиление кислородозависимых метаболических реакций в нейтрофилах и моноцитах и повышение экспрессии на мембране последних рецепторов Fcγ, C3b, HLA-DR+ (рис. 11).



Влияние обработки эритроцитов барана ПеМП
на индукцию первичного иммунного ответа

Показатели			Группы животных	
			опытная	контрольная
Воздействия			Иммунизация эритроцитами, обработанными ПеМП (50 Гц 25 мТл 30 минут)	Иммунизация интактными эритроцитами
Количество ЯСК в селезенке ($\times 10^6$)			137,8 \pm 10,3*	108,9 \pm 5,17
Количество АОК в селезенке ($\times 10^3$)			23,3 \pm 3,47*	12,4 \pm 1,95
Уровень гемолизинов (lg титров)			1,87 \pm 0,054*	1,54 \pm 0,122
Тимус	Относительная площадь, у.е.	корковое вещество	42,46 \pm 2,3*	31,56 \pm 1,85
		мозговое вещество	36,32 \pm 1,68*	27,28 \pm 2,21
	Плотность расположения лимфоидных клеток в дольках, у.е.	корковое вещество	175,8 \pm 3,32*	160,5 \pm 3,3
		мозговое вещество	109,0 \pm 2,27	104,8 \pm 1,5

Примечание. * – статистически достоверные отличия от контроля ($P < 0,05$);
ЯСК – ядродержащие клетки селезенки;
АОК – антителообразующие клетки.

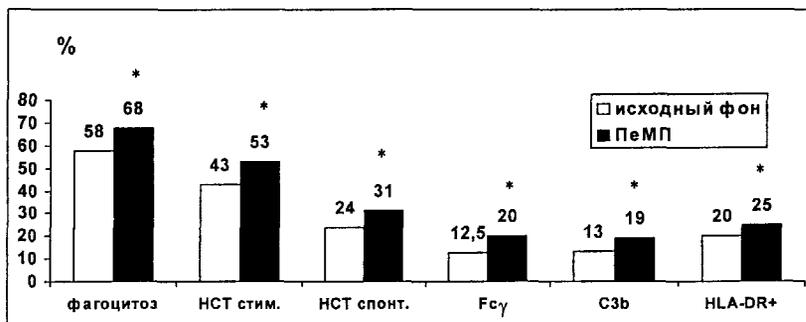


Рис. 11. Влияние ПеМП на фагоцитоз и экспрессию рецепторов моноцитами онкологических больных. * - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Кроме того, было отмечено повышение продукции TNF- α и IL-1 β моноцитами после омагничивания периферической крови больных (рис. 12). Так исходный индекс стимуляции для TNF- α составлял 1,27 \pm 0,66, что было обуслов-

лено высокой спонтанной и сниженной ЛПС-индуцированной продукцией этого цитокина у больных; после воздействия ПеМП в режиме 100 Гц 50 мТл 30 минут этот показатель возрос до $3,97 \pm 0,97$ ($P < 0,05$).

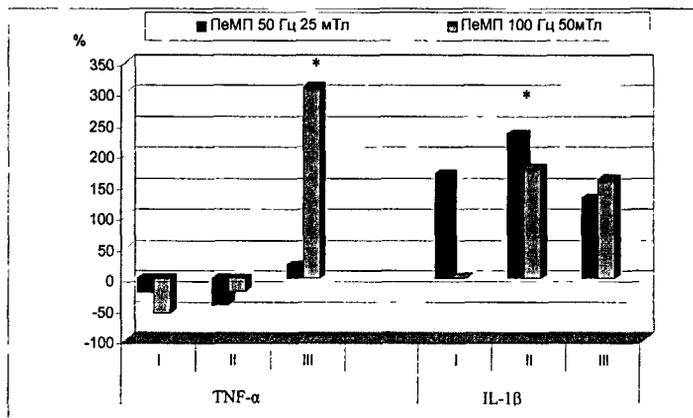
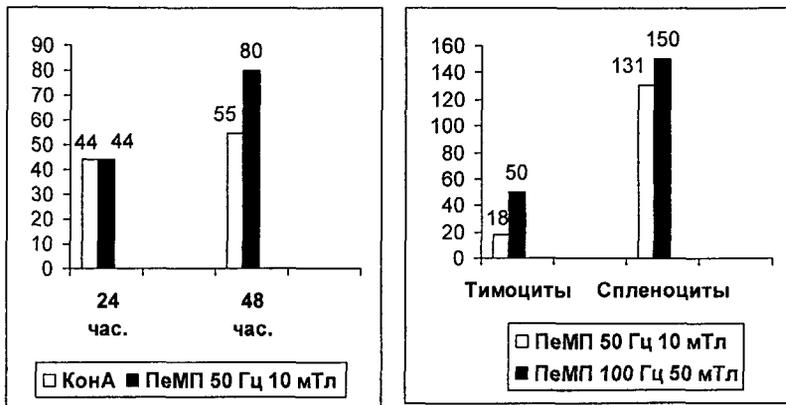


Рис. 12. Влияние ПеМП на продукцию монокинов (% от исходного фона): I – спонтанная продукция; II – ЛПС – индуцированная продукция; III – индекс стимуляции. * - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Изучение влияния ПеМП на состояние Т-клеток выявило повышение продукции и/или секреции IL-2 культурой Т-лимфоцитов Jurkat, сопоставимое с эффектом классического индуктора IL-2 – КонА (рис. 13 А, Б), а также усиление функциональной активности и митогеноподобное действие при постановке РБТЛ с омагниченными лимфоцитами больных (рис.14). Оценка экспрессии дифференцировочных рецепторов продемонстрировала повышение уровня некоторых из них на обработанных ПеМП клетках (CD2+, CD11b+, HLA-DR+ на лимфоцитах больных (рис. 15), CD4+ и HLA-DR+ на лимфоцитах Jurkat). Исследование действия ПеМП на функциональную активность НК-клеток выявило усиление их цитотоксичности (на 40-70%) при различных режимах (рис.16).



А. Влияние ПеМП на пролиферацию культуры Jurkat (% от исходного фона).

Б. Ростковое действие супернатантов культуры Jurkat, обработанной ПеМП, на тимоциты и спленоциты мышей (ИС, % от контроля).

Рис. 13. Влияние ПеМП на продукцию IL-2.

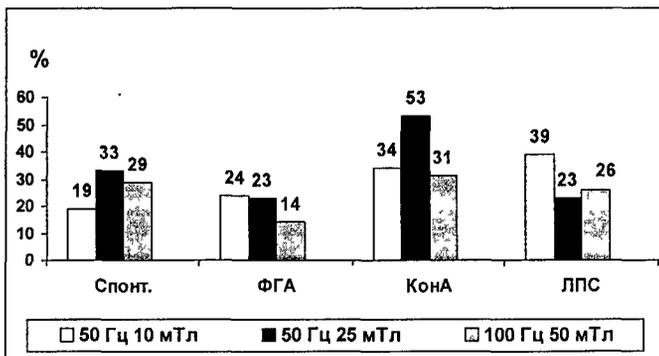


Рис. 14. Влияние ПеМП на функциональную активность лимфоцитов больных (% от исходного фона).

Учитывая полученные эффекты ПеМП, которые характеризуются как стимуляция пролиферации, дифференцировки, активации и эффекторных функций иммукомпетентных клеток при экстракорпоральной обработке крови и лимфы больных, мы применили в курсе неoadьювантной АГХТ, проводи-

мой большим местно-распространенным раком молочной железы и легкого, введение аутологичной крови, обогащенной в объеме 100-150 мл в режимах 50 Гц 25 мТл, 100 Гц 50 мТл, 50 Гц 10 мТл и 3 Гц 10 мТл; экспозиция во всех случаях составляла 30 минут. Метод получил название аутогемамагнитотерапии (АГМТ).

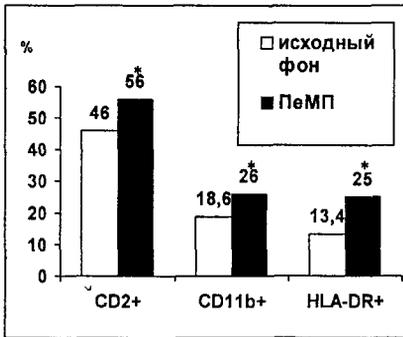


Рис. 15. Влияние PeMP на экспрессию некоторых лимфоцитарных рецепторов.

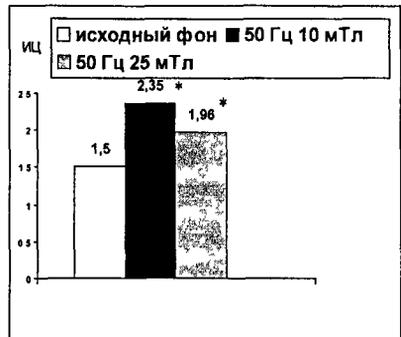


Рис. 16. Влияние PeMP на цитотоксичность NK-клеток.

* - статистически достоверные отличия от исходного фона ($P < 0,05$).

Оценка иммунного статуса после проведения АГМТ+АГХТ у больных раком молочной железы показала выраженный иммунокорректирующий эффект (рис. 17). Отмечалось статистически достоверное повышение уровня Т-клеток с улучшением их субпопуляционного состава, а также функциональной активности Т- и В-лимфоцитов. Позитивные отличия регистрировались как по сравнению с исходными данными, так и с результатами больных, получавших немодифицированную АГХТ (группа сравнения). Корреляционный анализ между показателями иммунного статуса, клинической эффективности (процент регрессии опухоли) и некоторыми морфологическими характеристиками опухоли, удаленной после неoadъювантного курса (площадь стромы, процент дистрофически измененных клеток), проведенный для групп больных раком молочной железы, подвергавшихся АГХТ и АГМТ+АГХТ, продемонстрировал, что применение АГМТ способствует мобилизации цитотоксических звеньев иммунной

системы. Так у больных, получавших АГХТ, регрессия опухоли обнаруживает прямую корреляционную связь с содержанием CD4+ клеток, что предполагает сохранность процессов распознавания и продукции цитокинов, а у больных, получавших АГМТ+АГХТ, выявлены прямые сильные корреляционные связи клинической эффективности с содержанием CD8+ и CD16+ клеток. При этом у них на всех этапах лечения отмечены прямые корреляционные связи между содержанием CD8+ и CD16+ клеток, что мы расцениваем как отражение синергизма цитотоксических клеток различных видов.

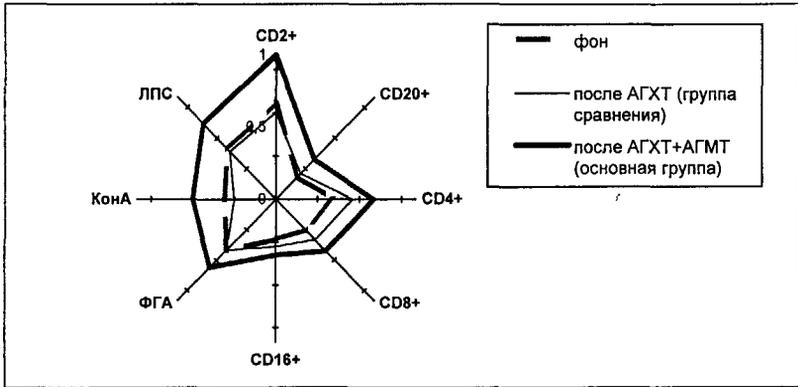


Рис. 17. Влияние АГХТ с АГМТ на иммунный статус больных раком молочной железы ($\times 10^9/\text{л}$).

Осуществление АГМТ совместно с АГХТ при раке легкого вызвало выраженное повышение уровня CD8+ клеток (до $29,1 \pm 2,5\%$) по сравнению как с исходным фоном ($20,0 \pm 2,3\%$), так и с больными, получавшими АГХТ ($21,2 \pm 2,5\%$). На наш взгляд, такая динамика отражает активацию цитотоксического звена иммунной системы. Обращает на себя внимание, что возрастание уровня CD8+ клеток отмечено как при АГМТ, так и при использовании препаратов интерферона, а *in vitro* - и при действии ронколейкина, т.е., ПемП имитирует эффекты классических иммуномодуляторов.

Итак, на основании исследования различных аспектов действия ПеМП на иммунную систему онкологических больных с различной локализацией процесса, можно заключить, что как МТ, так и АГМТ с использованием ПеМП различных режимов, обладают иммунокорригирующим эффектом, вызывая у больных, получающих противоопухолевое лечение (оперативное вмешательство или неoadъювантную АГХТ), повышение содержания Т- и В-лимфоцитов, увеличение их функциональной активности, оптимизацию субпопуляционного состава лимфоцитов. Если в случае обычной МТ эти эффекты можно объяснить, исходя из известного регуляторного действия ПеМП на структуры центральной нервной системы, обладающие высокими магнитоцепторными свойствами, и опосредованной через них стимуляцией исходно сниженных иммунологических параметров, то при АГМТ, на наш взгляд, существенную роль играет прямое влияние магнитного поля на иммунокомпетентные клетки. Обработка крови и лимфы ПеМП вызывает изменение экспрессии дифференцировочных, адгезионных и активационных рецепторов на мембранах лимфоцитов и моноцитов, повышение их функциональной активности, в частности, продукции цитокинов, активацию цитотоксических звеньев иммунитета (CD8+ и CD16+ клеток), ответственных за развитие противоопухолевых реакций (рис. 18). АГМТ может быть охарактеризована как новый метод биотерапии с выраженной иммуностропной активностью, применимый при различных иммунодефицитных состояниях, в том числе и при злокачественных новообразованиях в качестве терапии сопровождения АГХТ.

Таким образом, на основании полученных в данной работе результатов было показано, что аутологичные жидкие ткани (кровь и лимфа) являются универсальными средами для проведения различных лечебных мероприятий, включающих как медикаментозные, так и электромагнитные воздействия на организм онкологических больных, при этом биотерапевтический компонент, отмеченный при их использовании, связан с иммунокорригирующим эффектом. На наш взгляд, его реализация происходит различным образом при различном использовании этих воздействий.

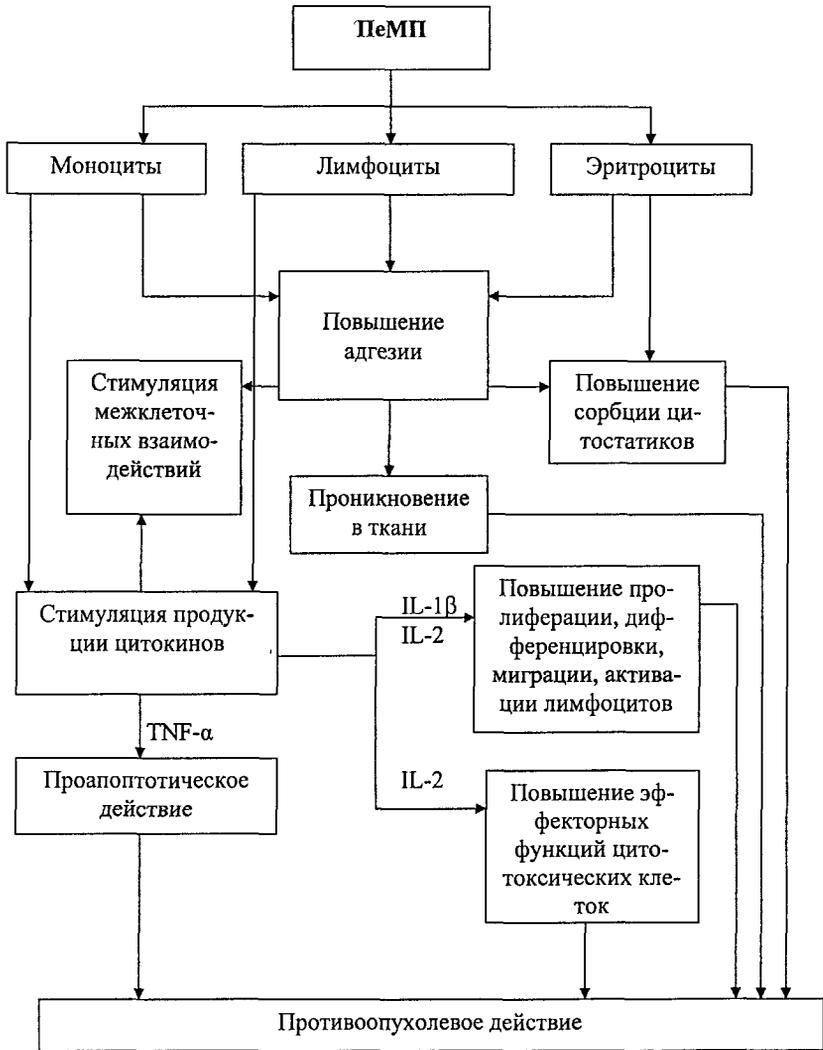


Рис. 18. Механизмы реализации противоопухолевого эффекта при действии переменного магнитного поля на клетки периферической крови онкологических больных.

Так, при АГХТ и АЛХТ основной позитивный эффект на иммунный статус связан с повышением туморотропности и снижением токсичности химиопрепаратов, вводимых после инкубации с аутологичной кровью или лимфой; их носителями служат как белки, так и форменные элементы. При введении иммуноотропных препаратов основную роль играет экстракорпоральная активация иммунокомпетентных клеток, прежде всего обладающих цитотоксической активностью. Экстракорпоральное действие переменного магнитного поля на аутокровь приводит к сходным изменениям – выраженной стимуляции активности лимфоцитов и моноцитов, что находит отражение при включении АГМТ в неoadъювантный курс АГХТ и проявляется в иммунокорригирующем эффекте.

ВЫВОДЫ

1. Инкубация крови и лимфы больных солидными опухолями и лимфо-пролиферативными заболеваниями с различными цитостатиками в терапевтических дозах оказывает неодинаковое влияние на иммунобиологическое состояние лимфоцитов в зависимости от используемой жидкой ткани, вида и концентрации цитостатиков: максимальным повреждающим действием на лимфоциты обладают доксорубин и вепезид; лимфоциты лимфы чувствительнее к химиопрепаратам, чем лимфоциты крови.

2. Проведение химиотерапии на аутологичных жидких тканях и их компонентах – крови, лимфе, плазме (аутогемо-, аутолимфо- и аутоплазмохимиотерапия) приводит к позитивным изменениям иммунного статуса вне зависимости от локализации процесса и уровня исходной иммунодепрессии. Иммунологическая динамика взаимосвязана с полученным клиническим эффектом: полная регрессия опухоли сопровождается позитивными изменениями иммунологических показателей (повышением уровня Т-лимфоцитов, их функциональной активности, улучшением субпопуляционного состава), а отсутствие регрессии вызывает их угнетение.

3. Улучшение показателей иммунного статуса у онкологических больных под действием аутогемохимиотерапии развивается как при солидных опухолях, так и при лимфо-пролиферативных заболеваниях с различной распростра-

ненностью процесса, а также регистрируется при неoadьювантной аутогемохимиотерапии, включающей 1-2 курса, и многокурсовой, включающей 5-6 курсов.

4. В процессе экстракорпоральной преинкубации с аутокровью онкологических больных иммуотропные препараты вызывают ряд изменений иммунологических свойств лимфоцитов: препараты интерферона-альфа стимулируют адгезивные свойства, цитомедины приводят к усилению экспрессии ряда дифференцировочных рецепторов (CD2+, CD4+, CD8+, CD25+, HLA-DR+) и цитотоксичности естественных киллеров, проявляя зависимость эффекта от использованной концентрации и/или от исходного фона показателей; оба вида препаратов способствуют повышению пролиферативной активности лимфоцитов.

5. Применение эпиталамина и реаферона при раке молочной железы в комплексе с химиотерапией на аутологичной крови и плазме способствует улучшению иммунного статуса больных по сравнению с немодифицированными аутогемохимиотерапией и аутоплазмохимиотерапией. Аналогичная динамика отмечается при проведении многокурсовой аутогемохимиотерапии с введением Интрона А на аутокрови больным неходжкинскими лимфомами.

6. Ронколейкин при культивировании с ним лимфоцитов лимфы больных раком яичника вызывает выраженное повышение цитотоксичности естественных киллеров и стимулирует функциональную активность Т-клеток. Лимфокин-активированные киллеры, генерированные из лимфоцитов лимфы при экстракорпоральном действии ронколейкина, могут быть применены для лечения этого заболевания в комплексе с аутолимфохимиотерапией.

7. Новый цитокиновый препарат суперлимф вызывает усиление процессов регенерации, которое сопровождается благоприятными иммунологическими изменениями у онкологических больных после операции и короткофокусной радиотерапии.

8. Новый цитомединовый препарат – тимомиметик вилон вызывает иммунокорректирующий эффект у больных раком молочной железы и может быть использован в качестве сопровождения при химиотерапии.

9. Применение сочетанного центрального и местного действия переменного магнитного поля в послеоперационном периоде у больных раком мочевого пузыря вызывает стимуляцию исходно сниженных показателей иммунного статуса, что сопровождается позитивным клиническим эффектом.

10. Экстракорпоральное действие переменного магнитного поля различных режимов на кровь и лимфу онкологических больных приводит к стимуляции иммунокомпетентных клеток: макрофагов (фагоцитарной и регуляторной функций), нейтрофилов (кислородозависимых и кислородонезависимых механизмов бактерицидности), Т-лимфоцитов (пролиферации, продукции цитокинов, адгезии, активации, дифференцировки), естественных киллеров (эффекторной функции), что является основанием для применения аутокрови, обработанной переменным магнитным полем с целью иммунокоррекции.

11. Применение аутогемохимиотерапии, модифицированной с помощью аутогемоманнитотерапии, для лечения больных местно-распространенным раком молочной железы и легкого приводит к благоприятной динамике их иммунного статуса (повышению количества Т-лимфоцитов, их функциональной активности, нормализации субпопуляционного состава, активации цитотоксических клеток иммунной системы, обладающих противоопухолевой активностью), что вносит вклад в достижение клинического эффекта в виде регрессии опухоли.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведенные исследования позволяют рекомендовать применение АГХТ и АЛХТ в комплексном лечении больных солидными опухолями и лимфопролиферативными заболеваниями вне зависимости от локализации и распространенности процесса с целью обеспечения сохранности их иммунного статуса.

2. Учитывая полученные данные о стимуляции функций иммунокомпетентных клеток онкологических больных (пролиферации, дифференцировки, активации, эффекторных функций) после экстракорпоральной обработки крови и лимфы иммунопрепаратами (цитомединами, цитокинами, интерфе-

ронами), их следует применять в комплексном лечении рака молочной железы и неходжкинских лимфом после преинкубации с аутологичной кровью.

3. На основании установленной нами стимуляции функций иммунокомпетентных клеток онкологических больных (пролиферации, дифференцировки, активации, эффекторных функций) после экстракорпоральной обработки крови онкологических больных ПеМП, представляется целесообразным использовать метод аутогемамагнитотерапии для проведения немедикаментозной иммунокоррекции у больных раком молочной железы и легкого.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние аутолимфохимиотерапии на иммунный статус больных метастазно-распространенным раком молочной железы // Материалы 1-го съезда онкологов стран СНГ. М., 1996. Ч. 2. С. 576 (соавт. Лазутин Ю.Н., Загора Г.И.).

2. Иммунный статус больных местно-распространенным раком молочной железы при неoadьювантной аутолимфохимиотерапии // Российский онкологический журнал. 1996. №1. С.38-41 (соавт. Сидоренко Ю.С., Чирвина Е.Д., Лазутин Ю.Н. и др.).

3. Влияние переменного магнитного поля на функциональную активность лимфоцитов человека // Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине (Труды I Междунар. Конгресса. Санкт-Петербург, июнь 1997). СПб., 1997. С. 194 (соавт. Бордюшков Ю.Н., Загора Г.И.).

4. Влияние способов введения цитостатиков на иммунный статус онкологических больных // Совр. пробл. аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии. (Труды 1-й Нац. Конф. РААКИ. Москва, 28-31 января 1997). М., 1997. С. 268 (соавт. Загора Г.И., Словеснова В.Г., Лазутин Ю.Н.).

5. Possible mechanisms of adaptive effect of the magnetic field // V World Congress of International Society for Adaptive Medicine (ISAM). 7-10 Sept. 1997. Frammingham, USA, 1997. P.93 (Goroshinskaya I.A., Bordiushkov Y.N., Gorlo E.I.).

6. Chemotherapy in complex treatment of vulvar and ovarian cancer // 10-th International Meeting European Society on Gynaecological Oncology 26 April – 2

May 1997. Coimbra, Portugal. Eur.J.of Gyn.Oncol. S.O.G. Canada. P. 302. Abstr. 241 (Nerodo G.A., Zakora G.I., Stepura L.A.).

7. Иммунологическая эффективность аутогеохимиотерапии у больных злокачественными опухолями // Internat. J. on Immunorehabilitation. 1998, №8. P.327. Abstr. 86 (соавт. Семилеткин О.М., Назарова О.Э., Малейко М.Л.).

8. Особенности иммунного статуса у больных лимфопролиферативными заболеваниями при аутогеохимиотерапии // Совр. пробл. аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии (Труды 2-й Нац. Конф. РААКИ). М., 1998. С.363 (соавт. Попова И.Л.).

9. Влияние обработки цитостатиками *in vitro* на иммунологические свойства лимфоцитов больных раком яичника // Internat. J. on Immunorehabilitation. 1999. №12. P.103. Abstr. 392 (соавт. Сидоренко Ю.С., Неродо Г.А., Горшинская И.А. и др.).

10. Коррекция иммунного статуса у больных злокачественными опухолями мочевого пузыря с помощью магнитотерапии // Internat. J. on Immunorehabilitation. 1999. №14. P.67. Abstr. 250 (соавт. Капкина Н.Н., Задерин В.П., Гончаров С.И.).

11. Эпиталамин в неоадьювантной химиотерапии больных раком молочной железы пожилого возраста // Труды 1-го Российского съезда геронтологов и гериатров. Самара, 20-23 июня. 1999. С. 59-60 (соавт. Владимирова Л.Ю., Сидоренко Ю.С., Хавинсон В.Х., Малинин В.Г.).

12. Новые подходы к химиотерапии рака молочной железы // Онкология на рубеже XXI века: возможности и перспективы. М., 1999. С. 434-344 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимирова Л.Ю., Загора Г.И., Верховцева А.И.).

13. Use of epithalamine for immunocorrection in elder patients with breast cancer // Gerontologie and Geriatrie. IV Eur. Congr. of Gerontology. Berlin. July 7-11 1999. Band. 32, Suppl. 2. P.269. Abstr.1036 (Sidorenko Y.S., Vladimirova L.Y., Khavinson V.Kh.).

14. Use of epithalamine for immunocorrection in patients with breast cancer // VI International Congress on Hormones and Cancer. Jerusalem. Israel. Sept. 5-9 1999. Abstr. 437 (Sidorenko Y.S., Vladimirova L.Y.).

15. The pineal gland peptide in therapy for breast cancer // World Conf. on Breast Cancer. Ottawa, July 26-30 1999. Abstr. 658 (Sidorenko Y.S., Vladimirova L.Y.).

16. Биотерапия на основе лимфы в лечении больных распространенным раком яичника // Паллиативная мед. и реабилитация. 2000. № 1-2. С.65 (соавт. Сидоренко Ю.С., Голотина Л.Ю., Неродо Г.А. и др.).

17. Первый опыт лечения больных неходжкинскими лимфомами методом аутогемохимиотерапии // Паллиативная мед. и реабилитация. 2000. № 1-2. С.65 (соавт. Сидоренко Ю.С., Айрапетов К.Г., Верховцева А.И. и др.).

18. Перспективы метода аутогемохимиотерапии в паллиативной онкологии // Паллиативная мед. и реабилитация. 2000. № 1-2. С 58 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимиров Л.Ю., Верховцева А.И.).

19. Влияние преинкубации с эпителином на функциональную активность лимфоцитов онкологических больных // Мед. иммунология. 2000. Т.2. №2. С.218-219 (соавт. Владимиров Л.Ю., Загора Г.И.).

20. Новые возможности применения эпителина в курсе неoadъювантной аутогемохимиотерапии рака молочной железы // Мед. иммунология. 2000. Т.2. №2. С.218 (соавт. Владимиров Л.Ю., Загора Г.И.).

21. Иммунологические предпосылки применения метода аутогемохимиотерапии в лечении онкологических больных // Мед. иммунология. 2000. Т.2. №2. С. 147 (соавт. Айрапетов К.Г., Верховцева А.И., Загора Г.И.).

22. Влияние аутолимфохимиотерапии на показатели клеточного иммунитета и функциональное состояние мембран клеток крови у больных распространенным раком яичников // Высокие технологии в онкологии. (Труды V Всероссийского съезда онкологов). Казань. 4-7 октября 2000. Т.2. С.403 (соавт. Голотина Л.Ю., Горошинская И.А., Айрапетов К.Г., Горло Е.И.).

23. Иммунологическое обоснование аутолимфохимиотерапии (АЛХТ) у больных местно-распространенным раком полости рта и глотки // Высокие технологии в онкологии. (Труды V Всероссийского съезда онкологов). Казань. 4-7 октября 2000. Т.2. С. 317 (соавт. Сидоренко Ю.С., Светицкий П.В., Альникин А.Б., Загора Г.И.).

24. Химиотерапия с использованием естественных сред организма при раке молочной железы // Онкология 2000 (Материалы 2-го съезда онкологов СНГ). Экспериментальная онкология. Май 2000. 22. Suppl. Abstr. 941 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимирова Л.Ю., Горошинская И.А. и др.).

25. Первый опыт применения иммуномодулятора суперлимфа в комплексном лечении онкологических больных // Мед. иммунология. 2001. Т.3. №2., С.267-268 (соавт. Васильева Ю.Я., Загора Г.И., Ганковская Л.В.).

26. Влияние переменного магнитного поля на иммунобиологическое состояние лимфоцитов онкологических больных // Совр. пробл. аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии. (Труды IV Конгресса РААКИ). М., 2001. Т.II. С.63 (соавт. Старжецкая М.В., Загора Г.И., Верховцева А.И.).

27. Применение рихлокаина в качестве иммуномодулятора в комплексном лечении больных раком молочной железы // Совр. пробл. аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии. (Труды IV Конгресса РААКИ). М., 2001. Т.II. С. 332 (соавт. Абрамова Н.А., Бордюшков Ю.Н., Загора Г.И.).

28. Иммунокорригирующее действие переменного магнитного поля в послеоперационном периоде при злокачественных опухолях мочевого пузыря // Вопросы онкологии. 2001. Т.47. №3. 312-314 (соавт. Капкина Н.Н., Задерин В.П., Загора Г.И.).

29. Новые возможности ЛАК-терапии в лечении рака яичников // Материалы IV съезда иммунологов и аллергологов СНГ 9-14 сентября 2001. М., 2001. Т.2. №2. С. 118-119 (соавт. Сидоренко Ю.С., Голотина Л.Ю., Неродо Г.А. и др.).

30. Применение интерлейкина-2 в курсе неоадьювантной химиотерапии при раке яичников // Internat. J. on Immunorehabilitation. April 2001. V.3. №1. P.17. Abstr. 32 (соавт. Сидоренко Ю.С., Неродо Г.А., Голотина Л.Ю., Загора Г.И.).

31. Дозо-зависимое действие платидиама на иммунобиологические свойства лимфоцитов // Отечественная онкология – основные пути развития (к 70-

летнему юбилею РНИОИ МЗ РФ). М., 2001. С. 474-484 (соавт. Сидоренко Ю.С., Загора Г.И., Альников А.Б., Чилингарянц С.Г.).

32. Токсическое действие доксорубицина на лимфоциты и возможности его снижения при проведении аутогемохимиотерапии злокачественных новообразований // Отечественная онкология – основные пути развития (к 70-летнему юбилею РНИОИ МЗ РФ). М., 2001. С. 308-318 (соавт. Загора Г.И., Горошинская И.А., Голотина Л.Ю. и др.).

33. Применение нового цитокинового препарата суперлимфа в лечении постлучевых трофических изменений кожи и слизистых у онкобольных // Мед. иммунология. 2002. Т.4. №2. С. 360 (соавт. Розенко Л.Я., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В.).

34. Применение вилона при химиотерапии больных раком молочной железы // Мед. иммунология. 2002. Т.4. №2. С. 360 (соавт. Владимирова Л.Ю., Загора Г.И.).

35. Влияние различных цитостатиков и их стандартных сочетаний на иммунобиологические свойства лимфоцитов при проведении АЛХТ и АГХТ // Системный подход к реабилитации онкологических больных после комбинированного и комплексного лечения. М., 2002. С.299-306 (соавт. Голотина Л.Ю., Загора Г.И., Козель Ю.Ю., Пустовалова А.В.).

36. Иммунный статус больных местно-распространенным раком прямой кишки при неoadьювантной АГХТ с локальной СВЧ-гипертермией // Системный подход к реабилитации онкологических больных после комбинированного и комплексного лечения. М., 2002. С.306-315 (соавт. Донцов В.А., Загора Г.И.).

37. Модификационные и функциональные тесты как возможные критерии выбора режима переменного магнитного поля для экстракорпоральной обработки крови и лимфы // Системный подход к реабилитации онкологических больных после комбинированного и комплексного лечения. М., 2002. С.319-329 (соавт. Загора Г.И., Чилингарянц С.Г., Старжецкая М.В. и др.).

38. Экстракорпоральное воздействие ПемП на аутокровь как новый метод иммунокоррекции у больных местно-распространенным раком молочной железы при аутогемохимиотерапии // Системный подход к реабилитации он-

кологических больных после комбинированного и комплексного лечения. М., 2002. С.423-433 (соавт. Старжецкая М.В., Загора Г.И., Никипелова Е.А.).

39. Влияние новых методов химиотерапии на биологических средах организма на иммунный статус больных раком молочной железы // Вопросы онкологии. 2002. Т.48. №2. С. 202-205 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимирова Л.Ю., Загора Г.И.).

40. Влияние экстракорпорального воздействия переменным магнитным полем на иммунокомпетентные клетки онкологических больных // Южно-Российский мед. журнал. 2002. №4. С. 50-55.

41. Влияние переменного магнитного поля на продукцию цитокинов моноцитами и лимфоцитами онкологических больных // Цитокины и воспаление. 2002. Т.1. №2. С. 75.

42. Применение вилона при химиотерапии больных раком молочной железы // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии (Труды V Конгресса РААКИ. Москва. 12-14 ноября 2002 г.). М., Т. 2. С. 344 (соавт. Владимирова Л.Ю.).

43. Иммунокорректирующие свойства рихлокаина в экспериментальной и клинической онкологии // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2001. Приложение 2. С. 129-132 (соавт. Бордюшков Ю.Н., Абрамова Н.А., Пономарев В.В., Галенко-Ярошевский П.А.).

44. Улучшение результатов аутогемохимиотерапии путем применения иммуномодулятора рихлокаина // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2001. Приложение 2. С.133-139 (соавт. Бордюшков Ю.Н., Абрамова Н.А., Пономарев В.В.).

45. Клинико-иммунологическая оценка аутоплазмохимиотерапии в лечении больных раком молочной железы // Паллиативная медицина и реабилитация. 2002. № 2-3. С. 57 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимирова Л.Ю.).

46. Первый опыт использования препарата "Суперлимф" в лечении трофических изменений кожи и слизистых после лучевой терапии // Паллиативная медицина и реабилитация. 2002. № 2-3. С. 68 (соавт. Розенко Л.Я., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В.).

47. Применение реаферона в комплексном лечении больных генерализованным раком молочной железы // Паллиативная медицина и реабилитация. 2002. № 2-3. С. 83 (соавт. Загора Г.И., Капуза Е.А., Холодный М.Д.).

ИЗОБРЕТЕНИЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Способ лечения рака молочной железы. Патент № 2145239, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 10.02.2000. Бюлл. №4 (соавт. Сидоренко Ю.С., Владимирова Л.Ю., Бордюшков Ю.Н. и др.)

2. Способ лечения рака молочной железы. Патент № 2178294, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 20.01.2002. Бюлл. №3 (соавт. Сидоренко Ю.С., Бордюшков Ю.Н., Абрамова Н.А. и др.).

3. Способ лечения рака молочной железы. Патент № 2158588, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 10.11.2000. Бюлл. №31 (соавт. Сидоренко Ю.С., Бордюшков Ю.Н., Верховцева А.И. и др.).

4. Способ лечения рака молочной железы. Патент № 2188025, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 27.08. 2002. Бюлл. №24 (соавт. Сидоренко Ю.С., Бордюшков Ю.Н., Верховцева А.И., Старжецкая М.В.).

5. Способ лечения неходжкинских лимфом. Патент № 2180594, зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 20.03.2002. Бюлл. №8 (соавт. Сидоренко Ю.С., Айрапетов К.Г., Верховцева А.И. и др.).

6. Способ лечения рака яичника. Решение патентной экспертизы о выдаче патента от 16.05.02 по заявке на изобретение №2001113377/14 (013905), приоритет от 15.05.01 (соавт. Сидоренко Ю.С., Голотина Л.Ю., Загора Г.И. и др.).

7. Способ лечения неходжкинских лимфом. Решение патентной экспертизы о выдаче патента от 4.01.03 по заявке на изобретение № 2001127330/14 (029043), приоритет от 8.10.01 (соавт. Сидоренко Ю.С., Голотина Л.Ю., Айрапетов К.Г. и др.).

8. Способ лечения рака легкого. Решение патентной экспертизы о выдаче патента от 1.03.02 по заявке № 2001127330/14 (029043), приоритет от 8.10.01 (соавт. Сидоренко Ю.С., Чилингарянец С.Г., Зинькович С.А. и др.).

Список сокращений:

АГМТ – аутогеомагнитотерапия
АГХТ – аутогемохимиотерапия
АЛХТ – аутолимфохимиотерапия
АОК – антителообразующие клетки
АПХТ – аутоплазмохимиотерапия
ИРИ – иммунорегуляторный индекс
ИС – индекс стимуляции
ИФА – иммуноферментный анализ
ИЦ – индекс цитотоксичности
КФР – короткофокусная радиотерапия
МТ – магнитотерапия
ПеМП – переменное магнитное поле
ПМТМ – показатель макрофагальной трансформации моноцитов
РБТЛ – реакция бласттрансформации лимфоцитов
СХТ – химиотерапия на стандартных растворителях
ЯСК – ядродержащие клетки
CTL – цитотоксические Т-лимфоциты
IL – интерлейкин
ЛАК – лимфокин-активированные киллеры
NK – естественные киллеры
TNF – фактор некроза опухоли

ПЕЧАТЬ РИЗОГРАФ. БУМАГА ОФСЕТНАЯ. ГАРНИТУРА "ТАЙМС".

ФОРМАТ 60x84/16. ОБЪЕМ 2,1 УЧ. - ИЗД. Л.

ЗАКАЗ № 151. ТИРАЖ 100 ЭКЗ.

ОТПЕЧАТАНО В КМЦ "КОПИЦЕНТР"

344006, г. РОСТОВ-НА-ДОНУ, СУВОРОВА, 19. ТЕЛ. 47-34-88

11851

2003-A

11851