

На правах рукописи

ЗАГУМЕННЫЙ

Владимир Викторович

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ РОНКОЛЕЙКИНОМ
ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ ПРИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ**

14.00.05 - внутренние болезни

14.00.01 – акушерство и гинекология

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

2401 - 11

Санкт-Петербург

2004 г.

Работа выполнена в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Щербак Сергей Григорьевич

доктор медицинских наук

Берлев Игорь Викторович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук профессор **Гриневич Владимир Борисович**

доктор медицинских наук профессор **Кустаров Виталий Николаевич**

Ведущее учреждение: ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова»

Защита диссертации состоится «14» февраля 2005 года в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 215.002.06 в Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова

(194044, г.Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, дом 6)

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Автореферат разослан «28» декабря 2004 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук профессор

Шуленин Сергей Николаевич

2005-4
37152

967935

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В Российской Федерации, как и в большинстве стран мира, отмечается тенденция к неуклонному росту заболеваемости злокачественными новообразованиями. По данным Минздрава России в 2001 году зарегистрировано 3 млн. 98 тысяч больных онкологическими заболеваниями, около 300 000 из них ежегодно умирают (Трапезников Н. Н., Аксель Е. М., 2001) .

В Санкт-Петербурге в течении последнего десятилетия рак яичников занимает пятое место среди онкологической патологии, как по частоте заболевания (5,9 %), так и по показателям смертности (Барчук А.С. с соавт., 1996; Резникова Т.В., 1998; Мерабишвили В.М., 2003) и ежегодно в городе регистрируется около 500 новых случаев рака яичников.

По мировым показателям опухоли яичников стабильно выходят в число лидирующих в онкологии причин смерти, уступая раку молочной железы, желудка и легких (Benjjanin I., 1998; Berek J. et al., 1999). В США смертность от рака яичников с 1997 по 2002 г возросла на 9% и аналогичная тенденция отмечается в других развитых странах (Jouglà E. et al., 1995; Hatae M. et al., 1998).

По данным экспертов ВОЗ (2001) в 84% причиной раковых заболеваний человека является персистенция хронических вирусных инфекций и около 15 % злокачественных заболеваний уже сегодня можно предотвратить при лечении и профилактике инфекционных заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов В и С, Эпштейна-Барра, папилломавирусами человека и герпес- вирусом 8-го типа.

Состояние здоровья человека в значительной степени зависит от полноценности иммунной защиты, которая выражается, прежде всего, в высокой антиинфекционной резистентности, которая позволяет развить эффективный иммунный ответ и элиминировать патоген. Система иммунитета одной из первых страдает при воздействии экстремальных факторов окружающей среды, а ее нарушения лежат в основе патогенеза большого числа заболеваний, в том числе онкологических (Змушко Е.И. с соавт., 2001). По мнению многих авторов, причинами вторичных иммунодефицитных состояний, наряду с онкологическим процессом, являются и сами методы, направленные на лечение заболевания, к которым относятся операционный стресс, лучевая и химиотерапия (Плейфер-Дж., 1998; Новиков В.И. с соавт., 1999).

По оценкам специалистов, успехи терапии онкологических больных будут связаны с внедрением в лечебную практику высокоэффективных иммуномодулирующих препаратов из класса рекомбинантных цитокинов, одним из которых является ронколейкин (Караулов А.В., 1999; Попович А.М., 2003). Однако, в настоящее время, показания и эффективность использования ронколейкина после комплексного противопухолевого лечения у больных раком яичников остаются не изученными.



Цель исследования: оценить клинико-иммунологическую эффективность рекомбинантного препарата ИЛ-2 «Ронколейкин» в системе иммунореабилитации больных со злокачественными опухолями яичников.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническую картину онкогинекологических больных после проведения комплексного противоопухолевого лечения.
2. Провести иммуногистохимическую идентификацию папилломавирусной инфекции в удаленных оперативным путем опухолях яичников.
3. Оценить состояние иммунной системы онкогинекологических больных, прошедших комплексное противоопухолевое лечение.
4. Изучить клиническую и иммунокорректирующую эффективность ронколейкина в послеоперационном лечении больных со злокачественными опухолями яичников.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Клиническая картина больных со злокачественными опухолями яичников после проведения комплексного противоопухолевого лечения характеризуется признаками вовлечения в патологический процесс органов пищеварения, кровообращения, кожи и ее придатков, нервной системы и обусловлена непосредственно опухолевым процессом, эмоциональным и оперативным стрессом, побочным действием химио- и лучевой терапии. Изменения в клинических показателях коррелируют с лабораторными признаками формирования вторичного иммунодефицитного состояния.
2. В опухолях яичников иммуногистохимическим методом верифицированы онкогенные папилломавирусы 16 и 18 типов, которые могут играть роль одного из этиологических факторов рака данной локализации.
3. Ронколейкин в системе реабилитационных мероприятий после комплексного противоопухолевого лечения рака яичников обладает выраженной иммунокорректирующей эффективностью противоопухолевой и противовоспалительной направленности с клиническими проявлениями в виде улучшения функционального состояния со стороны органов пищеварения, кожных покровов, сердечно-сосудистой и нервной системы.

Научная новизна.

Установлено, что в послеоперационном периоде соматические и инфекционные заболевания являются факторами, определяющими состояние здоровья онкогинекологических больных. Установлено, что комплекс факторов в виде онкопроцесса, оперативного вмешательства, лучевой и полихимиотерапии формируют стойкую дисфункцию иммунной системы, включающую лимфопению, нарушения в клеточном звене иммунного ответа, снижение индуцированной продукции ИЛ-1 и повышение спонтанной продукции ФНО- α и ИЛ-1, влияющих на запуск каскада иммунных реакций, усугубляющих иммуносупрессию в послеоперационном периоде.

Показано, что в результате проведенной фармакоиммунокоррекции ронколейкином больных со злокачественными опухолями яичников в реабилитационном периоде достоверно повышалось количество лимфоцитов за счет CD3, CD4, CD8, CD25 и CD16 их фракций, последние из которых являются основными клетками-эффекторами в системе противоопухолевого клеточного ответа. В цитокиновом провоспалительном звене после терапии ронколейкином отмечено снижение спонтанной и индуцированной продукции ФНО- α , нормализация индуцированной продукции и содержания ИЛ-1 в сыворотке крови. При анализе уровня ИЛ-2 установлено отсутствие его спонтанной продукции и содержания в сыворотке, в то время как индуцированная продукция монокина повышалась многократно, что является позитивным фактором в иммунокоррекции вторичных иммунодефицитных состояний онкологических больных.

Впервые выявлено, что изменения в иммунном статусе у больных злокачественными опухолями яичников после иммуномодулирующей терапии ронколейкином коррелировали с улучшением общего соматического состояния больных в виде регрессии диспептического и кардиоваскулярного синдромов, снижения частоты выявляемости астено-невротического и кожного синдромов.

Практическая значимость.

Определены клиничко-лабораторные показатели для включения в комплекс реабилитационных мероприятий иммуномодулятора цитокиновой природы – ронколейкина с использованием методики экстракорпоральной иммунофармакотерапии онкогинекологическим больным после проведения им противоопухолевого лечения.

Установлена ассоциативная связь папилломавирусной инфекции, имеющей высокий онкогенный потенциал, с развитием цистаденокарциномы яичников.

Отработаны иммунологические критерии достаточности иммуномодулирующей терапии ронколейкином больным со злокачественными опухолями яичников в реабилитационном периоде.

Апробация работы.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, сделано 3 доклада на научных конференциях.

Результаты работы докладывались на международных конференциях «СПИД, рак и родственные проблемы» (Санкт-Петербург, 1998 г.), на 1-й Всероссийской конференции по иммунотерапии (Сочи, 2003 г.), на научной конференции «Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты» (Санкт-Петербург, 2004г.).

Результаты работы внедрены в практику клиники военно-полевой терапии, акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Ульяновского областного онкодиспансера.

Результаты, полученные в исследовании, используются в материалах при проведении практических занятий на клинических и профилактических кафедрах Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав: обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 24 рисунками. Список литературы содержит 226 источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования.

Настоящая работа выполнена в клинике военно- полевой терапии Военно-медицинской академии в период с 1997 по 2003 г.г. Под наблюдением находилось 68 больных, прооперированных по поводу рака яичников в НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова и клинике акушерства и гинекологии ВМедА им. С.М.Кирова.

У всех больных, находящихся под нашим наблюдением, комплексное противоопухолевое лечение проводилось в специализированных онкогинекологических стационарах и заключалось в радикальном хирургическом лечении с последующей полихимиотерапией (ПХТ), включающей цитостатические препараты алкилирующего (цисплатин, циклофосфамид) и антиметаболического действия (хлорбутин, метотрексат, флуороурацил), глюкокортикоиды- 54 человека и комбинированной терапии (ПХТ+ лучевая терапия) - 14 больных.

Через 5-6 месяцев после комплексного противоопухолевого лечения исследовался иммунологический статус. Среди обследованных 41 женщине со злокачественными опухолями яичников проводилось иммунореабилитационное лечение ронколейкином, контрольную группу составили 27 женщин, которым не осуществлялась иммунореабилитация ронколейкином после противоопухолевого лечения.

Наряду с общеклиническим обследованием больных (жалобы, анамнез жизни и профессиональной деятельности, анамнез заболевания, физикальные данные) проводились лабораторно-инструментальные исследования, которые включали: общеклинические анализы крови и мочи по стандартным методикам; опухолевые маркеры (СЕА, СА-125) методом иммуноферментного анализа, биохимические исследования (белковый, липидный, пуриновый и углеводный обмен, электролиты, показатели функционального состояния печени, поджелудочной железы, почек и свертывающей системы); электрокардиографию, в т.ч. суточный мониторинг ЭКГ и АД; ультразвуковое исследование сердца, магистральных сосудов, а так же органов брюшной полости и малого таза; эндоскопическое исследование органов пищеварения.

В работе был использован комплекс иммунологических методов, характеризующих состояние основных звеньев и факторов иммунной системы. Исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии ВЦЭРМ под

руководством доктора медицинских наук профессора Калининой Н.М. Для оценки иммунного статуса у обследованных пациенток изучали: количество Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов/индукторов (CD4+), Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов (CD8+), естественных киллеров (CD16) и активационного маркера - субъединицы к рецептору ИЛ-2 (CD25) определяли с помощью проточного цитофлюориметра «EPICS- C» (Coulter electronics, США - Франция) с применением моноклональных антител фирмы «Ortho Diagnostic Systems» (США); количество В-лимфоцитов, несущих поверхностные иммуноглобулины классов М, G, А, определяли методом иммунофлюоресценции с использованием меченных ФИТЦ моноспецифических сывороток к иммуноглобулинам человека (Кожемякин Л.А. и соавт., 1987); концентрации иммуноглобулинов классов М, G, А, изучали методом радиальной иммунодиффузии в геле (Mancini S. et al., 1983); функциональную (фагоцитоз латекса) и метаболическую (НСТ-тест спонтанный и индуцированный) активность нейтрофилов измеряли с использованием форболмиристора; реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с конканавалином А (5мкг/мл) определяли в капиллярах.

Для определения состояния цитокинового спектра: ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2 были использованы наборы «Тест-система для определения ФНО- α человека в образцах биологических жидкостей» и «Тест-система иммуноферментная для определения ИЛ-1 β и ИЛ-2 человека» производства Института особо чистых препаратов, разработанные на основе иммуноферментной технологии. Наборы предназначены для количественного определения ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2 человека в образцах биологической жидкости в интервале концентраций 50-500 пг/мл. Количественная оценка результатов проводилась методом построения калибровочной кривой с использованием компьютерной программы «Microplate melenger», отражающей зависимость оптической плотности от концентрации для стандартного антигена и позволяющей сравнение с ним исследуемых образцов.

Вирусы папилломы человека исследованы в ткани опухоли яичников, взятых у 15 женщин во время операции. В оперативном материале вырезался кусочек опухолевой ткани яичника вместе с капсулой на визуальной границе здоровой и опухолевой ткани, либо кусочек опухолевой ткани яичника вместе с капсулой вне явных очагов некроза диаметром 1х3см и фиксировался в 10 % формалине с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали в обычном световом микроскопе.

Для выявления вируса папилломы человека был применен иммуногистохимический пероксидазный метод детекции антигенов вируса, основанный на специфической реакции антиген-антитело с авидин-биотиновой системой детекции (АВС- метод). В последующем срезы инкубировали 20 мин в блокирующей сыворотке с первичными антителами к вирусу простого герпеса и вирусу папилломы человека (производство «Novocastra») в разведении 1:100. Срезы инкубировали так же в растворе АВС- реагента, промывали в буфере 10 минут, в последующем инкубация срезов проводилась в растворе хромогена до

Продукт реакции выявлялся по наличию светло- и темнокоричневых гранул в опухолевых клетках яичника при микроскопическом исследовании в обычном световом микроскопе. В качестве своеобразного контроля экспрессии вирусных антигенов использовали срезы культуры тканей, инфицированных вирусом папилломы человека (производство ДАКО) - результат был положительным.

Пациенткам, прошедшим курс комплексного противоопухолевого лечения, после оценки иммунного статуса назначался ронколейкин. При лечении бала использована методика экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ), заключающаяся в выделении лейкоцитов методом цитофереза (в количестве не менее $3 \times 10^9/л$), инкубации с ронколейкином в термостате не менее 1 часа с дальнейшей реинфузией клеток. Доза ронколейкина составляла 1×10^6 МЕ два раза в течение одной недели на курс. ЭИФТ выполнялась в Центре экстракорпоральной детоксикации ВМедА им. С.М. Кирова под руководством доктора медицинских наук профессора А.Н. Бельских.

Оценка иммунологического статуса проводилась до начала, на следующий день и на 7-9 сутки после введения препарата.

Статистическую обработку проводили в соответствии с правилами вариационной статистики. Путем оценки параметров распределения первичных данных определяли среднее арифметическое значение (M), среднюю арифметическую ошибку (m), показатель существенной разницы (t) и значение степени свободы (n). После этого по таблицам Стьюдента определялось P - достоверным считались различия при уровне вероятности менее 5 % ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика больных раком яичников в дооперационном периоде.

Группу обследованных составили женщины, получившие комплексное противоопухолевое лечение по поводу эпителиального рака яичников. Возраст обследованных женщин находился в диапазоне от 30 до 60 лет. Из перенесенных ранее гинекологических заболеваний гормонозависимые (миома матки, эндометриоз, полипоз эндометрия) были выявлены у 26,3 % пациенток, воспалительные (острый и хронический сальпингоофорит или метроэндометрит)- у 52,4 % женщин, фоновые и предраковые заболевания шейки матки (эрозия, дисплазии I - III ст.) отмечены у 41,3 % больных, отрицали гинекологические заболевания в анамнезе 17,8 % пациенток.

Обращала на себя внимание поздняя диагностика рака яичников, так около 70 % пациенток впервые обратились с заболеванием, уже достигшим III или IV стадии. Наиболее частыми симптомами опухолевого процесса являлись болевые ощущения в животе и поясничной области, сопровождавшиеся вздутием живота, асцитом и гидротораксом. Только на поздних стадиях процесса отмечалась общая астенизация и нарушения функции газовых органов.

Согласно морфологической форме больные эпителиальным раком яичников были разделены на 5 групп: 1) серозная цистаденокарцинома- 59,5 %; 2) эндометриоидная цистаденокарцинома- 20,6 %; 3) недифференцированная неклассифицируемая цистаденокарцинома- 10,7 %; 4) муцинозная цистаденокарцинома- 7,4 %; 5) светлоклеточная цистаденокарцинома- 1,8%.

Среди больных с серозной цистаденокарциномой более половины находились в III стадии заболевания (62 %), у 17 % выявлена I стадия, у 7% - II стадия и у 14 % - IV стадия болезни. Все 43 пациентки получили комплексное лечение: 32 больные были прооперированы на первом этапе, 11- после проведения неoadьювантной полихимиотерапии. Эндометриоидная цистаденокарцинома выявлена у 14 больных (20,6 %). Почти все пациентки из этой группы прооперированы на I этапе (11 чел. - 78,1 %); проведены радикальные операции 11 женщинам (78,1 %), циторедуктивные- трем (21,7 %). Полихимиотерапия пациенткам (11 больных) этой группы проводилась с включением препаратов платины. Недифференцированная неклассифицируемая цистаденокарцинома диагностирована у 6 женщин (10,7 %). По возрасту, менструальному и репродуктивному анамнезам существенных отличий от общей группы не было выявлено. Все больные находились в III и IV стадиях заболевания и получали полихимиотерапию с включением препаратов платины. Муцинозная цистаденокарцинома была диагностирована у 4 женщин (7,4 %). Отличий от общей группы по возрасту, данным менструального, репродуктивного анамнеза не выявлено. У этих больных злокачественное новообразование развивалось на фоне доброкачественной муцинозной опухоли. Большинство больных было во II стадии заболевания и у одной пациентки рак яичников был выявлен на III стадии. Всем женщинам проведены радикальные операции на I этапе и полихимиотерапия на II этапе с использованием препаратов платины.

Папилломавирусная инфекция у больных раком яичников.

С помощью иммуногистохимического метода обнаружения антигенов вирусов папилломы человека было проведено изучение опухолевой ткани, полученной во время оперативного пособия 15 больных раком яичников в возрасте от 30 до 60 лет.

Получены данные позволили оценить характер и степень выраженности экспрессии антигенов онкогенных вариантов вируса папилломы человека в опухолевой ткани. Критерием оценки служили интенсивность окраски (светло-, темно-коричневые), размеры гранул (крупные, мелкие), их локализация (в цитоплазме, ядре), количество гранул в одной клетке, наличие перинуклеарной экспрессии в агломератах клеток. Резко положительной (+++) считалась реакция при наличии перинуклеарной экспрессии антигена в агломератах клеток яичника. Положительной (++) - при наличии темно-коричневых крупных гранул от 6 до 15, расположенных в ядре и цитоплазме, слабо положительной - при наличии 5- 6 светло-коричневых гранул в клетках, расположенных в цитоплазме. Отрицательной считалась реакция при отсутствии всех перечисленных компонентов экспрессии антигена.

Оценка реакции на рецепторы прогестерона проводилась по 7- балловой системе, где 7+ расценивалась как резко положительная, 5+ - положительная, 4+ - слабоположительная реакция. Вирус папилломы человека обнаружен у 10 (66,7 %) из 15 обследованных нами больных серозной цистаденокарциномой, в том числе у 8 (53,3 %) больных реакция была резкоположительной, у двух (13,3 %) - положительной.

Проведенное нами исследование свидетельствует о том, что папиллома-вирусы человека с высоким онкогенным потенциалом довольно часто встречаются в клетках цистаденокарциномы яичников, что позволяет предположить их этиопатогенетическую роль в развитии аденокарциномы и, соответственно, необходимость целенаправленного подхода к терапии больных в периоде реабилитации с учетом возможности рецидива опухоли на фоне персистенции вируса с включением в лечебную программу иммуотропных препаратов противовирусной направленности, одним из которых является роколейкин.

Клиническая характеристика больных со злокачественными опухолями яичников после проведения комплексной противоопухолевой терапии.

Клинико- лабораторное обследование женщин, прооперированных по поводу эпителиального рака яичников и последующей полихимио- и лучевой терапии выявило значительно более частые соматические синдромы и заболевания, чем в дооперационном периоде (рис.1). Так, диспептический синдром диагностирован в 86,7 %, в то время как до операции он выявлялся у 52,1 % пациенток. Больные предъявляли жалобы на тошноту(81,7 %) и снижение аппетита вплоть до анорексии (86,7 %). На боль в эпигастальной области обращали внимание (73,3 %) обследуемых, при этом не отмечалась ее связь с приемом пищи. Обычно боли носили ноющий характер, стихали после приема антацидов и спазмолитиков. На боли в правом подреберье тупого, давящего характера, без иррадиации жаловались 53,4 % пациенток, а на боли в подвздошных областях акцентировали внимание 20 % больных, при этом в большинстве случаев они стихали после дефекации. Жалобы на метеоризм отмечали 26,7 %, а на диарею 6,7 % больных соответственно, при этом неустойчивый стул отмечался у 66,7 % обследуемых. При физикальном исследовании у этих больных были обнаружены: стоматит (20 %), болезненность при пальпации в эпигастральной области (86,7 %), в правом и левом подреберьях (26,7 %), по ходу толстой кишки (41,7 %), спазмированная сигмовидная и слепая кишка (46,7 %), болезненность в околопупочной области (26,7 %) и незначительная гепатомегалия у 20 %. Основные клинические синдромы, выявленные у обследуемых больных представлены на рисунке 1.

Астено-невротический синдром присутствовал у 93,3 % больных (до операции в сочетании с полихимиотерапией и лучевой терапией встречался в 76 % случаев). Больные чаще всего предъявляли жалобы на тревожное настроение (93,3 %), снижение эмоционального фона (80 %), общую слабость и недомога-

ние (80 %), головные боли различной локализации и характера (77 %), дисфорию (73,3 %).

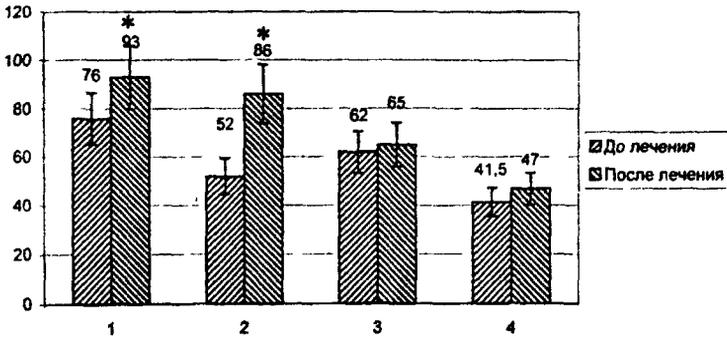


Рис. 1. Динамика частоты выявления основных клинических синдромов у больных раком яичников до и после противоопухолевого лечения.

- 1-й – астено-невротический синдром;
 2-й – диспептический синдром;
 3-й – кардиоваскулярный синдром;
 4-й – заболевания кожи и ее придатков.

* достоверные изменения по сравнению с исходными данными при $p < 0,05$

Кардиоваскулярный синдром выявлен у 65,3 % больных, при этом не установлено достоверных различий в частоте этого синдрома до и после комплексной терапии. Жалобы на кардиалгии предъявляли 53,3 % больных. При этом было отмечено, что боли с локализацией в области левой половины грудной клетки, без четкой связи с нагрузкой, при нормальных цифрах артериального давления возникали в 27 % случаев, в то же время при наличии умеренной артериальной гипертензии - в 73 %. Болевой синдром, характеризующий коронарную недостаточность, был выявлен у 4 пациенток в возрасте 50-60 лет и соответствовал стенокардии напряжения I и II функционального класса. По данным анамнеза у этих больных ИБС диагностирована еще до оперативного лечения. Объективно выявлены: склонность к гипотонии у 26,7 %, артериальная гипертензия у 46,7 % больных, тенденция к тахикардии у 33,3 % и брадикардии у 20 % обследуемых. Данные клинические особенности в большинстве случаев подтверждались суточным мониторингом ЭКГ и АД. Кроме того, на ЭКГ - нарушения процессов реполяризации метаболического характера регистрировались у 56,7 % обследуемых. Кожный синдром обнаружен у 46,7 % больных (до терапии, включающей оперативное лечение с полихимиотерапией и лучевой терапией выявлен в 41,5 % случаев), из них: дерматиты в 20,0 %, атрофические изменения кожи, ногтей в 46,7 % и склонность к алопеции в 40,0 % случаев.

Таким образом, у всех больных после проведенной операции, лучевой и полихимиотерапии имелись соматические заболевания и различные клинические проявления, которые, с одной стороны, являлись фоновой патологией, а с другой - побочными эффектами комплексной противораковой терапии: достоверно значимо преобладали астено-невротический и диспептический синдромы. При этом, по литературным данным, диспептический синдром у онкогинекологических больных в условиях иммуносупрессии в послеоперационном периоде во многом зависит от активации эндогенной и экзогенной инфекции, в частности, энтеровирусов, цитомегаловируса (Змушко Е.И. и соавт., 2001; Белозеров Е.С и соавт., 2004). Все это свидетельствовало о необходимости проведения медикаментозной иммунореабилитации больных.

Иммунный статус и иммунокорригирующая терапия ронколейкином больных раком яичников в послеоперационном периоде.

Полученные данные исследований параметров иммунитета свидетельствовали о том, что перед началом реабилитационной терапии имело место значительное угнетение всех показателей клеточного иммунного ответа у онкогинекологических больных (табл.1). Данный факт, главным образом и послужил мотивом для проведения курса иммуномодулирующей терапии ронколейкином.

Таблица 1.

Абсолютные показатели иммунокомпетентных клеток в динамике реабилитационной терапии больных раком яичников

Время обследования	Лейкоциты	Лимфоциты	CD3+	CD4+	CD8+	CD25+	CD16+
1	4907,3± 248,2	1326,6 ± 98,3	819,4± 48,4	572,1± 46,3	228,6± 19,0	219,0± 18,7	41±3,9
2	5721,4± 382,1	2035,9 ± 173,2*	1203,4 ± 95,9*	681,5± 51,7	382±, 26,9*	482,1± 33,8*	78±4,7
3	5972,5± 412,8	2786,9 ± 104,8*	1233,8 ± 88,3*	732,7± 59,3*	377,1± 22,6*	316,4± 28,2*	104±7,3
Норма	5582± 206,1	2311± 86,4	1229± 53,8	742,3± 41,9	493±22, 4	327,3±16 ,0	219±11,7

Примечание:

1 – до введения ронколейкина;

2 – непосредственно после введения ронколейкина;

3 – через 7- 9 дней после терапии ронколейкином

* различия с группой 1 достоверны при $p < 0,05$

Как видно из представленных данных (табл. 1), после введения ронколейкина у больных отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение абсолютного содержания в крови лимфоцитов за счет увеличения субпопуляций CD3-клеток в 1,5 раза, CD4-клеток в 1,27 раза, CD8-клеток в 1,65 раза и CD25-клеток в 1,44 раза, что свидетельствовало о нормализации количественных показателей основных иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих клеточный иммунитет. Для оценки участия иммунной системы в противоопухолевом иммунитете важное значение имеет определение уровня в крови естественных киллеров, имеющих маркер - CD16. Анализ динамики показателей CD16+ выявил достоверно ($p < 0,05$) низкий их абсолютный уровень ($41 \pm 3,9$ клеток в 1 мкл.) у больных до начала иммунореабилитации и увеличение содержания ($104 \pm 7,3$ клеток в 1 мкл.) после завершения терапии ронколейкином, хотя и не достигающее нормальных значений.

Изучение динамики показателей гуморального иммунитета выявило до начала терапии достоверное повышенное содержание сывороточных IgA и IgM. По полученным нами данным, ронколейкин не оказывал влияния на показатели гуморального иммунитета, т.е. не выявлено статистически значимых различий между исходным уровнем IgA, IgM и IgG и после введения ронколейкина.

Из группы цитокинов мы изучили динамику ФНО- α (табл.2) посредством которого, в конечном итоге, происходит уничтожение опухолевых клеток без выраженного влияния на нормальные клетки, стимуляция пролиферации эндотелиальных и эпителиальных клеток. Через 7-9 дней после реабилитационной терапии уровень спонтанной продукции ФНО- α колебался в пределах нормы ($46,2 \pm 3,03$ пг/мл), а индуцированной - сохранялся достоверно ниже ($p < 0,05$) нормативных величин ($207,4 \pm 16,9$ пг/мл), выявляясь в сыворотке лишь у 10% больных (средний уровень - $67,4 \pm 9,4$).

Таблица 2.

ФНО- α (пг/мл) у больных злокачественными опухолями яичников в динамике иммунореабилитации

Группы	Спонтанная продукция	Индукцированная продукция	Содержание в сыворотке
1	$277,9 \pm 18,4$	$932,8 \pm 79,3$	114 ± 23
2	$127,9 \pm 8,26^*$	$244,8 \pm 18,2^*$	$98,5 \pm 6,9^*$
3	$46,2 \pm 3,03^*$	$207,4 \pm 16,9^*$	$67,4 \pm 9,4^*$
Норма	$38,5 \pm 5,88$	$648,2 \pm 31,6$	32 ± 11

Примечание:

1 - до введения ронколейкина;

2 - непосредственно после введения ронколейкина;

3 - через 7-9 дней после терапии ронколейкином

* различия с группой 1 достоверны при $p < 0,05$

Другими исследованными цитокинами были ИЛ-1 и ИЛ-2. При этом известно, что ИЛ-1 стимулирует воспалительные реакции, дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, увеличивает экспрессию рецепторов к ИЛ-2. Функция ИЛ-2, по имеющимся литературным данным, заключается в активации дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, повышении цитотоксической активности естественных киллеров, обеспечивающих уничтожение опухолевых клеток.

Изучение уровня ИЛ-1 (табл.3), выявило до начала терапии высокий уровень его спонтанной продукции ($190,5 \pm 8,14$ пг/мл) и сниженный - индуцированной ($771,6 \pm 64,0$ пг/мл). Через неделю после завершения цитокиновой терапии ронколейкином спонтанная продукция ИЛ-1 достигла почти исходного уровня ($273,7 \pm 16,9$ пг/мл), а индуцированная - достоверно повысилась ($p < 0,05$), трехкратно превышая исходный уровень ($2273,8 \pm 163,8$ пг/мл), в то же время в сыворотке крови цитокин не выявлялся.

Таблица 3.

ИЛ-1 (пг/мл) у больных злокачественными опухолями яичников в динамике иммунореабилитации

Группы	Спонтанная продукция	Индукцированная продукция	Содержание в сыворотке
1	$190,5 \pm 8,14$	$771,6 \pm 64,0$	Обнаружен у 30% больных, средний уровень – $289,5 \pm 22,8$
2	$605,4 \pm 48,8^*$	$1150,4 \pm 88,3^*$	Обнаружен у 33,7%, средний уровень – $542,8 \pm 45,2^*$
3	$273,7 \pm 16,9^*$	$2273,8 \pm 163,8^*$	Отсутствовал у всех больных*
Норма	30-50	1000-5000	0-50

Примечание:

1 – до введения ронколейкина;

2 – непосредственно после введения ронколейкина;

3 – через 7-9 дней после терапии ронколейкином

* различия с группой 1 достоверны при $p < 0,05$

По нашим данным, при нормальном уровне индуцированной, спонтанная продукция ИЛ-2 (табл. 4) до начала терапии обнаруживалась у 10% больных, а в сыворотке цитокин определялся у 30% больных в концентрации $2,89 \pm 45,9$ (ед/мл). Непосредственно после введения ронколейкина спонтанная продукция ИЛ-2 выявлялась у половины больных (средний уровень достигал $2,04 \pm 0,11$ ед/мл), а его индуцированная продукция достоверно превышала ($p < 0,05$) верхнюю границу нормы в два раза ($49,4 \pm 3,28$ ед/мл), и в сыворотке крови он обнаружен у трети пациентов в концентрации – $3,42 \pm 66,4$ (ед/мл).

Через 7- 9 дней после завершения цитокиновой терапии спонтанная продукция ИЛ-2 отсутствовала у всех больных, а индуцированная - достоверно

превышала норму ($p < 0,05$) в четыре раза ($117,4 \pm 12,8$ ед/мл), при этом в сыровотке крови цитокин отсутствовал у всех больных

Таблица 4.
ИЛ-2 (ед/мл) у больных злокачественными опухолями яичников в динамике иммунореабилитации

Группы	Спонтанная продукция	Индукцированная продукция	Содержание в сыровотке
1	Обнаружен у 10% больных, средний уровень $3,21 \pm 0,21$	Обнаружен у всех, средний уровень - $14,9 \pm 1,13$	Обнаружен у 30% больных, средний уровень - $2,89 \pm 0,45$
2	Обнаружен у 51,4% больных, средний уровень $2,04 \pm 0,11^*$	Обнаружен у всех, средний уровень $49,4 \pm 3,28^*$	Обнаружен у 33,7%, средний уровень - $3,42 \pm 0,64^*$
3	Отсутствовал у всех больных	Обнаружен у всех, средний уровень - $117,4 \pm 12,8^*$	Отсутствовал у всех больных
Норма	0-5	10-25	

Примечание:

- 1 – до введения ронколейкина;
 - 2 – непосредственно после введения ронколейкина;
 - 3 – через 7- 9 дней после терапии ронколейкином
- * различия с группой 1 достоверны при $p < 0,05$

Изучение динамики показателей фагоцитарной активности нейтрофилов у больных в послеоперационном периоде выявило достоверное повышение фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ) в послеоперационном периоде под влиянием иммунореабилитационной терапии ронколейкином. При анализе состояния неспецифических факторов защиты установлено, что у больных до начала терапии отсутствовало достоверное отклонение от нормы изученных тестов, хотя выявлялась тенденция к снижению базового НСТ- теста. На следующий день после терапии достоверно снижались ($p < 0,05$) стимулированный НСТ-тест по отношению к исходному $12,4 \pm 1,1$ и $4,8 \pm 1,0$ соответственно. Через 7-9 дней после иммунотерапии данный показатель восстанавливался.

Таким образом, полученные нами результаты по влиянию реабилитационной иммунотерапии больных со злокачественными опухолями яичников подтвердили многочисленные экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что интерлейкин-2 является ростовым и дифференцировочным фактором для Т-лимфоцитов. Нормализация уровня их субпопуляций- CD4+, CD8+, CD25+ являлась важнейшим критерием эффективности лечения вторичных иммунодефицитных состояний. При этом наблюдался значительный рост абсолютного числа CD16+ клеток, считающихся основными эффекторами противоопухолевого иммунитета. Наиболее выраженные изменения в цитокиновом

спектре выявлены в отношении индуцированной продукции ФНО- α и ИЛ-2, что так же отражало положительную динамику в иммунном статусе больных раком яичников на фоне иммунотерапии ронколейкином.

Оценка клинического статуса больных раком яичников после иммунореабилитационной терапии ронколейкином

Необходимо отметить, что применение ронколейкина в реабилитационной терапии, помимо закономерного иммуномодулирующего эффекта в нашей клинической выборке, было сопряжено с улучшением общесоматического статуса.

Анализ клинической эффективности иммунореабилитации больных эпителиальным раком яичников в послеоперационном периоде показал (рис.2), что терапия с включением ронколейкина способствовала уменьшению частоты диспептического синдрома с 86,7 % до 54,7% случаев. У больных уменьшилась частота встречаемости астено-невротического синдрома, который до терапии выявлялся у 93,3 % больных, а после иммунореабилитации - у 88,4 % пациентов. Заметно снизилась частота кардиоваскулярного синдрома- после проведенной реабилитационной терапии он сохранился у 17 больных (44,4 %), в то время как до реабилитационного лечения выявлялся в 65,3 % случаев. Отмечено так же снижение частоты выявляемости поражения кожи и ее придатков.

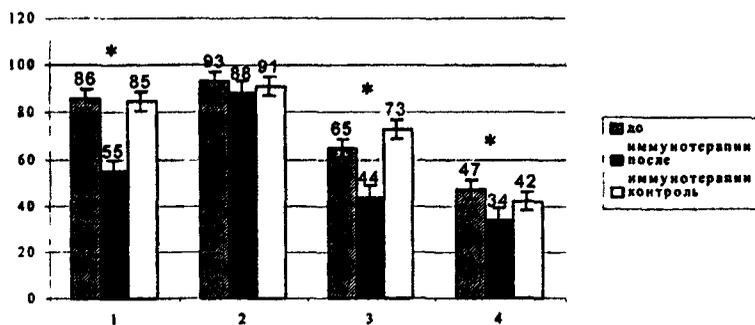


Рис. 2. Динамика частоты выявления основных клинических синдромов до и после иммунотерапии ронколейкином.

- 1 - диспептический синдром;
- 2 - астено-невротический синдром;
- 3 - кардиоваскулярный синдром;
- 4 - заболевания кожи и ее придатков.

* различия в группах статистически достоверны ($p < 0.05$)

Мы провели сопоставление клинических проявлений послеоперационного периода в двух группах больных: 1-я группа- больные, прошедшие курс

реабилитационной терапии ронколейкином (41 больная с эпителиальным раком яичников) и 2-я группа, контрольная, (27 больных) сопоставимая с первой по возрасту, виду опухоли и проведенному лечению по поводу рака яичников, но не находившихся на реабилитационной иммунотерапии (рис.2). При этом было установлено, что иммунореабилитация достоверно значимо ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой, позволила снизить частоту диспептического синдрома (85,1 % и 54,7 % встречаемости в 1-й и 2-й группе соответственно). Особенно значимо уменьшилась частота выявления у больных жалоб на тошноту, снижение аппетита, болей в эпигастрии, в то же время проявления кишечной диспепсии (неустойчивый стул, метеоризм) имели не столь значимую тенденцию к снижению. Данные физического исследования системы пищеварения так же позволили отметить положительную динамику в группе больных прошедших иммунореабилитацию.

Следовательно, ронколейкин через механизм восстановления и усиления Т-клеточного иммунного ответа, направленного против вирусной и бактериальной инфекции обеспечивает положительный эффект на состояние органов пищеварения в послеоперационном периоде.

Формирование астено-невротического синдрома у обследованных пациентов, по нашему мнению, связано с реакцией на основной диагноз, усугубленной оперативным лечением и противорецидивной терапией. При оценке его динамики на фоне иммунореабилитации не наблюдалось достоверной регрессии основных его проявлений (88,4 % в группе больных, прошедших иммунореабилитацию и 91,8 % в группе контроля). В то же время тенденция к снижению таких симптомов, как общая слабость, тревожное настроение прослеживалась статистически значимо ($p < 0,05$).

Как нам представляется, кардиоваскулярные нарушения обусловлены вегето-сосудистой дистонией, так как у двух трети пациентов, предъявлявших жалобы на боли в области сердца, выявлялась тенденция к артериальной гипертензии, что укладывалось в рамки данного синдрома. Только у 4 больных при проведении суточного мониторинга ЭКГ были выявлены характерные ишемические изменения. Такие функциональные нарушения сердечного ритма, как тахи-, и брадикардия являлись проявлением дисметаболических нарушений миокарда, что подтверждалось функциональными ЭКГ-тестами.

При анализе динамики синдрома кардиоваскулярных нарушений на фоне терапии ронколейкином обращает внимание статистически значимое ($p < 0,05$) снижение частоты выявления его в группе прошедших иммунореабилитацию (44,4 %) по сравнению с контрольной группой (73,3 %), такие симптомы как кардиалгии и артериальная гипертензия выявлялись реже в 1,7 и 1,8 раза соответственно. При электрокардиографическом исследовании нарушения процессов реполяризации метаболического характера в группе больных, прошедших лечение ронколейкином, регистрировались в три раза реже, чем в группе контроля. Клинический эффект ронколейкина в отношении коррекции функции сердечно-сосудистой системы, в первую очередь был связан с

уменьшением интоксикационного синдрома. Помимо этого важнейшее значение имеет и опосредованный эффект препарата. Так, взаимообусловленность иммунной системы и состояние симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в настоящее время бесспорны (Зуйков Ю.А., 2001).

Требует дальнейшего изучения полученный факт достоверного ($p < 0,05$) уменьшения частоты встречаемости алопеции и атрофии кожи с 42,1 % в контроле, до 34,2 % в опытной группе на фоне иммунореабилитационной терапии ронколейкином.

Таким образом, иммунореабилитационная терапия ронколейкином больных раком яичников в послеоперационном периоде приводила к достоверному улучшению общего соматического состояния в 28,5 % случаев, в частности отмечалась регрессия диспептического синдрома в 32 % случаев, кардиоваскулярного - в 20 %, частота встречаемости астено-невротического синдрома уменьшилась на 6 % и кожного синдромов на 12 % соответственно. Клинический эффект ронколейкина, по нашему мнению, обусловлен в первую очередь опосредованным иммунорегулирующим влиянием на нейро-эндокринную и вегетативную нервную систему, а так же антиинфекционным и противовоспалительным эффектами.

ВЫВОДЫ

1. У больных эпителиальным раком яичников после проведенного комплексного противоопухолевого лечения клиническая картина определялась наличием астено-невротического (93,3 %), диспептического (86,7 %), кардиоваскулярного (65,3 %) и кожного синдромов (46,7 %), являющихся осложнением проведенной противоопухолевой терапии.

2. Папилломавирусы человека с высоким онкогенным потенциалом при проведении иммуногистохимического исследования обнаруживаются в 75 % больных серозной цистаденокарциномой, что свидетельствует о возможной ассоциативной связи вирусной инфекции с формированием рака яичников.

3. У больных со злокачественными опухолями яичников в период после комплексного противоопухолевого лечения отмечается выраженная лимфопения, снижение CD3, CD4, CD8, CD25 субпопуляций лимфоцитов, естественных киллеров, нарушения в цитокиновом спектре в виде уменьшения индуцированной продукции ИЛ-1, повышения уровня спонтанной продукции и содержания ФНО- α и ИЛ-1 в сыворотке, снижение индуцированной продукции ИЛ-2. Со стороны показателей неспецифической резистентности снижение базового НСТ-теста и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов.

4. Фармакоиммунокоррекция ронколейкином онкогинекологических больных (рак яичников) в реабилитационном периоде приводит к достоверному повышению количества лимфоцитов, в том числе их CD3, CD4, CD8, CD25 и CD16 фракций, к снижению спонтанной, индуцированной продукции ФНО- α , а

так же нормализации содержания ИЛ-1 и ФНО- α в сыворотке крови, четырехкратному повышению индуцированной продукции ИЛ-2 при нормализации его спонтанной продукции и содержания в сыворотке, повышению фагоцитарной активности нейтрофилов.

5. Непосредственные клинические эффекты терапии ронколейкином в послеоперационном периоде заключаются в достоверном улучшении общего соматического состояния больных (в 28,5 % случаев), регрессии диспептического (на 32 %), кардиоваскулярного (на 20 %), астено-невротического (на 6 %) и кожного синдромов (на 12 %).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В работе стационаров, обеспечивающих реабилитацию онкогинекологических больных в послеоперационном периоде, рекомендуется применять иммуномодулятор цитокиновой природы – ронколейкин.

2. При лечении целесообразно использовать методику экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ), заключающейся в выделении лейкоцитов методом цитофереза (в количестве не менее 3×10^9 / л), инкубации с ронколейкином в дозе 1млн. МЕ в термостате в течение 1 часа с дальнейшей реинфузией клеток. На курс лечения одна - две процедуры с интервалом 1-2 дня.

3. Оценку иммунологического статуса оптимально проводить до начала, на следующий день и на 7-9 сутки после введения препарата.

4. Критерием достаточности иммуномодулирующей терапии ронколейкином будут являться повышение абсолютного количества лимфоцитов, в том числе их субпопуляций CD3, CD4, CD8, CD25 и CD16; нормализация содержания в сыворотке, спонтанной и индуцированной продукции ФНО- α и ИЛ-1; отсутствие спонтанной продукции и содержания в сыворотке ИЛ-2, и трех-, четырехкратное повышение его индуцированной продукции; а так же повышение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Щербак С.Г., Загуменный В.В., Бельских А.Н., Плотский А.Н. Использование ронколейкина в иммуномодулирующей терапии вторичных ИДС методом экстракорпоральной фармакоиммунокоррекции // Материалы Всесармейской научно-практической конференции, посвященной 200-летию Российской Военно-медицинской академии. - СПб, 1999. - С. 192-195.
2. Загуменный В.В., Щербак С.Г., Бельских А.Н., Плотский А.Н. Перспективы использования ронколейкина в системе иммунореабилитации онкогинекологических больных // Материалы Всесармейской научно-практической конференции, посвященной 200-летию Российской Военно-медицинской академии. - СПб, 1999. - С. 195-198.
3. Щербак С.Г., Берлев И.В., Загуменный В.В., Бельских А.Н., Терешин А.Е. Иммуномодулирующая терапия ронколейкином больных злокачественными

- опухольями яичников в реабилитационном периоде // Материалы Всесоюзной научно-практической конференции «Медицинские последствия экстремальных воздействий на организм». - СПб, 2000. - С. 155-159.
- 4 Загуменный В.В., Щербак С.Г., Берлев И.В. Применение рекомбинантного препарата ИЛ-2 в системе иммунореабилитации онкогинекологических больных // Материалы Российской научной конференции «Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности». - СПб, 2001. - С. 259-263.
 - 5 Щербак С.Г., Берлев И.В., Загуменный В.В., Бельских А.Н., Калинин Н.М. Опыт применения ронколейкина в лечении вторичных иммунодефицитных состояний онкогинекологических больных // Эфферентная терапия. - 2002. - Т. 8, № 3. - С. 55-57.
 - 6 Загуменный В.В. Иммунокорректирующая терапия ронколейкином больных раком яичников после противоопухолевого лечения // Мат. X Российского национального конгресса «Человек и лекарство» 7-11 апреля 2003 г. - М., 2003. - С.354-355.
 7. Щербак С.Г., Берлев И.В., Загуменный В.В. Фармакоиммунокоррекция вторичных иммунодефицитных состояний в реабилитационный период после комплексного противоопухолевого лечения // Материалы Российской научной конференции «Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности». - СПб, 2004. - С. 177-178.

Подписано в печать 28.07.04

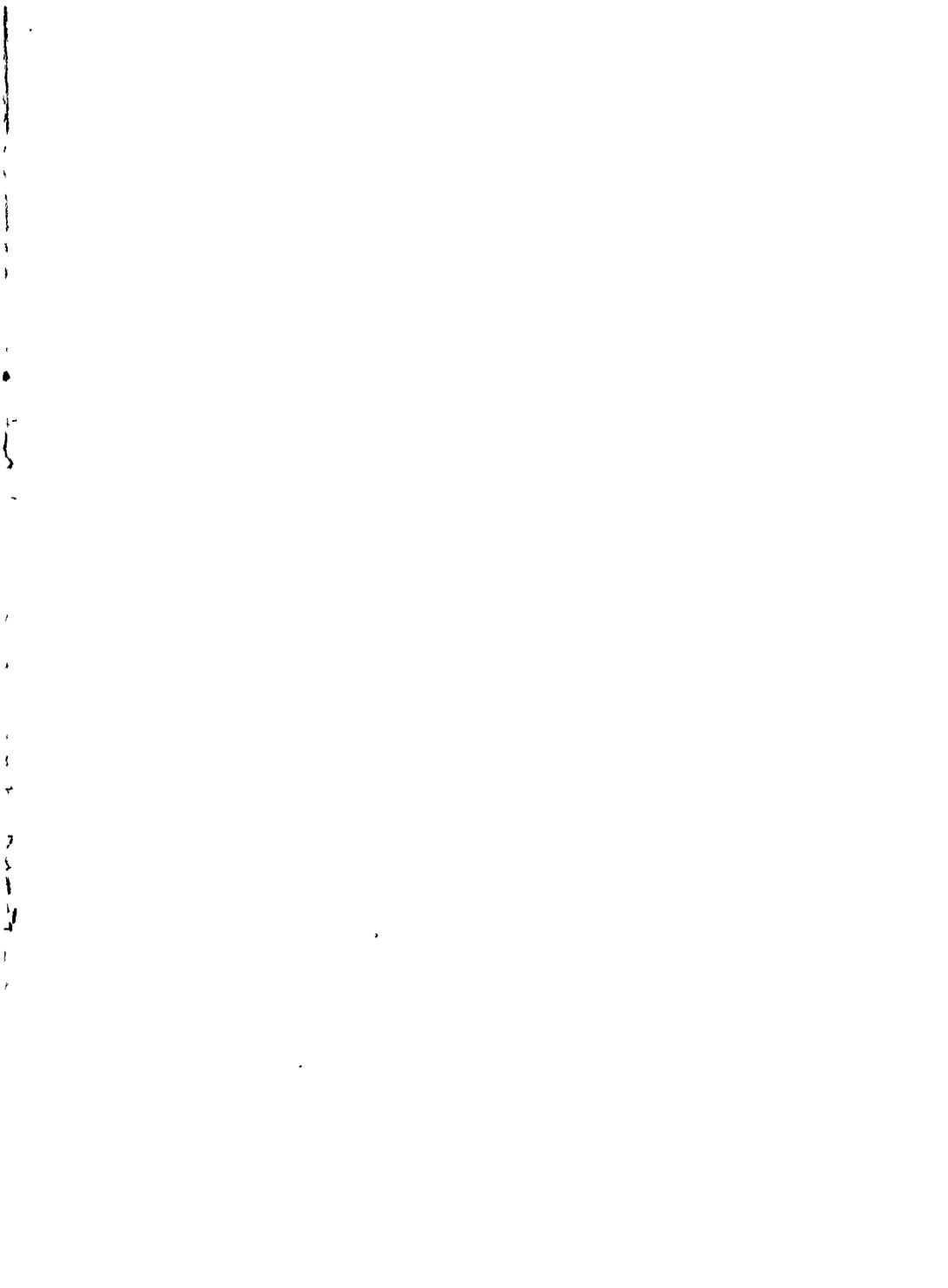
Объем 1¹/₄ п.л.

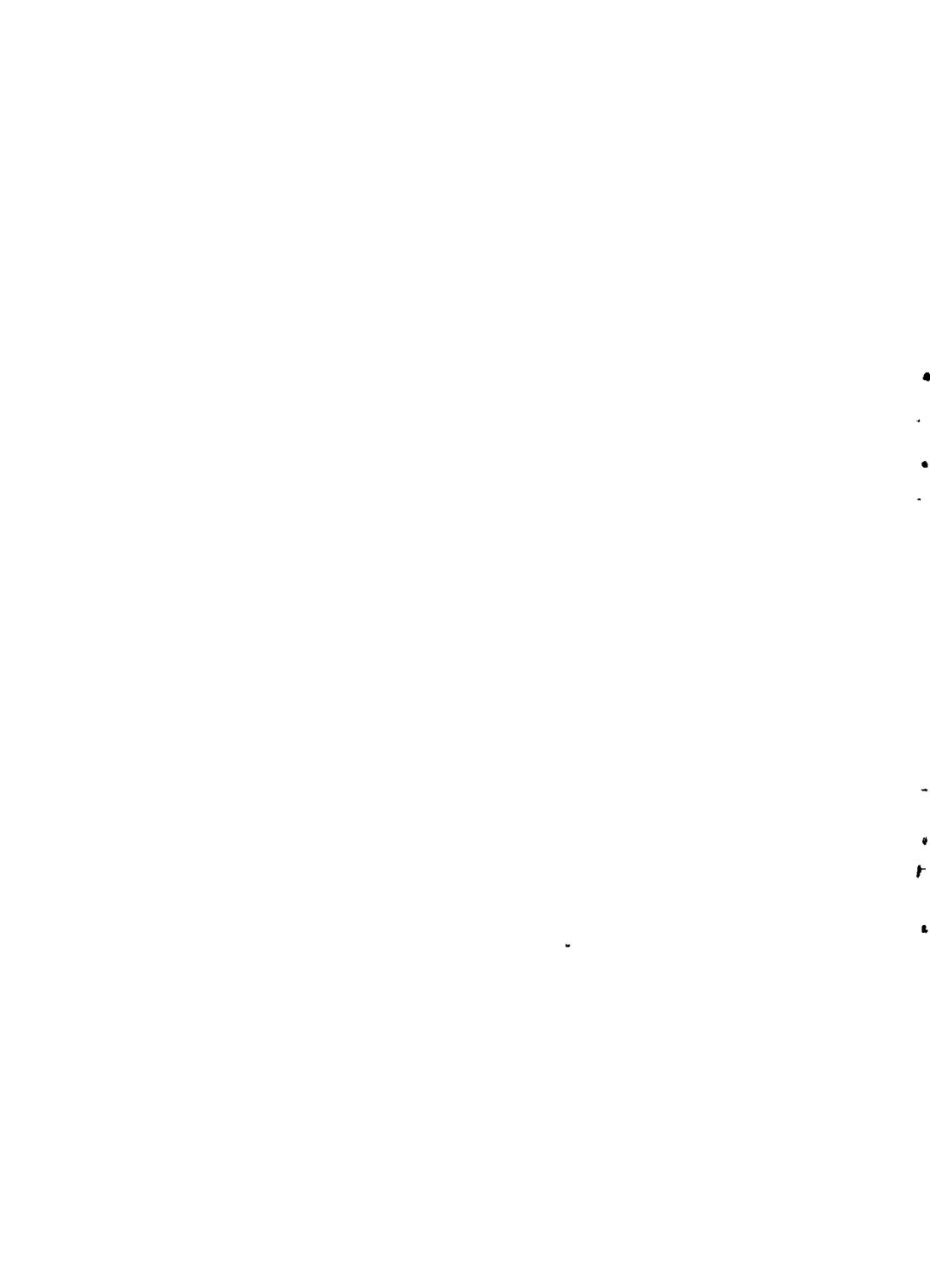
Тираж 100 экз.

Формат 60x84 1/16

Заказ № 1299

Типография ВМЕДА,
194044, СПб., ул. Академика Лебедева, 6







Р-1042

РНБ Русский фонд

2005-4

37152