

© Коллектив авторов, 1998
УДК 618.19-006.6-085.37

С. Н. Рязанцева, И. В. Высоцкая, В. Д. Ермилова,
В. И. Бахуташивили

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДООПЕРАЦИОННОМ ПРИМЕНЕНИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРА «ПЛАФЕРОН» (предварительное сообщение)

НИИ клинической онкологии

В последние годы иммунокоррекция, или иммунореабилитация, прочно входит в комплексное лечение различных заболеваний, в том числе и онкологических. Установлено, что применение иммуномодуляторов способствует увеличению сроков безрецидивного течения, повышению эффективности лечения онкологических больных. В то же время к настоящему времени количество иммуномодуляторов с достаточно изученным механизмом их действия невелико, что делает актуальным поиск препаратов, обладающих способностью активизировать определенные звенья иммунной системы.

Одним из таких веществ является плаферон. Плаферон содержит α - (85—90%), β - (8—10%) и γ - (3—5%) интерфероны, антивирусная активность препарата достигает 3200 МЕ/мл [1]. Кроме того, плаферон обладает дезинтоксикационным, антигипоксическим, иммуномодулирующим свойствами [4].

Показано, что плаферон модулирует нарушения в клеточном звене иммунитета, повышая количество Т-клеток с фенотипом CD4 и уменьшая число Т-клеток с фенотипом CD8, нормализуя таким образом коэффициент соотношения CD4/CD8 [1]. Одним из механизмов действия препарата является стимуляция аденилатциклазной активности клеток и ингибция обмена фосфатидилинозитфосфатов [1]. Выявлено иммуномодулирующее действие плаферона при лечении больных диабетической периферической полинейропатией, детей с идиопатическим нефротическим синдромом, острым вирусным гепатитом В.

Эти данные послужили основанием для исследования препарата при онкологических заболеваниях.

Рак молочной железы занимает одно из первых мест в структуре заболеваемости злокачественными образованиями. Исследования последних лет показали, что использование иммуномодулирующих препаратов повышает эффективность комплексного лечения рака молочной железы [2].

Материалы и методы. Обследовали пациенток (18 женщин) в возрасте 35—55 лет с цитологически верифицированным раком молочной железы (у 15 — инфильтративный протоковый рак, у 3 — инфильтративный дольковый рак). Степень распространенности процесса, по данным комплексного обследования, соответствовала T1—2N0M0 (Международная классификация злокачественных новообразований, 1989).

Всем больным до хирургического этапа внутритуморально вводили плаферон в дозе 90 000 ЕД, после чего через сутки производили оперативное вмешательство: в 10 случаях — радикальную мастэктомию с сохранением грудных мышц, в 8 — радикальную резекцию молочной железы.

С целью иммунофенотипирования кусочки ткани из опухоли брали от 8 больных (инфильтративный протоковый рак) как до плаферонотерапии,

S.N.Ryazantseva, I.V.Vysotskaya, V.D.Ermilova,
V.I.Bahutashvili

IMMUNOMORPHOLOGICAL CHANGES IN BREAST CANCER AS A RESULT OF PREOPERATIVE ADMINISTRATION OF IMMUNOMODULATOR PLAFERON (Interim Report)

Research Institute of Clinical Oncology

Over the last years immunocorrection or immunorehabilitation became a frequent modality of complex treatment for many diseases including cancer. Administration of immunomodulators was found to increase disease-free survival and treatment efficiency of cancer patients. However, there are currently few immunomodulators whose mechanism of action is well known and further research is needed to find agents with immunity enhancement potential.

Plaferon is an agent with immunological activity. Plaferon contains interferone α -(85-90%), β -(8-10%) and γ -(3-5%), its antiviral activity reaches 3200 IU/ml [1]. Besides, plaferon demonstrates detoxic, antihypoxic and immunomodulating activities [4].

Plaferon was shown to modulate cell-mediated immunity by increasing the number of CD4 T-cells and reducing the number of CD8 T-cells and thus normalizing the CD4/CD8 ratio [1]. A mechanism of action of plaferon is stimulation of cellular adenylate cyclase activity and inhibition of phosphatidyl inositephosphates [1]. Plaferon immunomodulating potential was demonstrated in patients with diabetic peripheral polyneuropathy, children with idiopathic nephrotic syndrome, in acute viral hepatitis B.

Basing on these findings we performed a study of the drug effect in cancer patients.

Breast cancer is a most common malignancy. It was demonstrated over the last years that immunomodulating drugs increased efficacy of complex treatment for breast cancer [2].

Materials and Methods. The study was performed in a group (n=18) of female patients aged 35 to 55 years with cytologically verified breast cancer (15 invasive ductal cancers, 3 invasive lobular cancers), disease stage T1-2N0M0 (according to International Classification of Cancer, 1989).

All the patients received preoperatively intratumoral administration of plaferon at 30,000 U and 24 hours later underwent surgery consisting of radical mastectomy with muscle preservation (n=10) or radical resection of the breast (n=3).

To perform immunophenotyping tumor tissue specimens were taken from 8 patients (invasive ductal cancer) before and after plaferon therapy to prepare serial cryostat sections which were further studied by indirect immunofluorescence. The 5-7 mm sections were transferred by sets of three onto fatless ground slides. Before antibody staining the sections were fixed in cooled acetone for 10 min at 4 °C. Further procedures were carried out at room temperature in humid air. The preparations were exposed to monoclonal antibody for 30 min and then washed in medium 199 for 10 min. After that the specimens were treated with FITC-labeled F(ab) fragments of antiserum against white mouse globulins for 30 min and washed 10 min in medium 199. The sections were preserved in 50% glycerin saline

так и после нее. Из полученного материала готовили серийные криостатные срезы, которые исследовали методом непрямой иммунофлуоресценции. Срезы толщиной 5—7 мк помещали по три на поверхность обезжиренных предметных стекол. Перед окраской антителами срезы фиксировали в охлажденном ацетоне в течение 10 мин при 4 °C. Последующие этапы реакции проводили при комнатной температуре во влажной камере. Моноклональные антитела наносили на 30 мин, а затем в течение 10 мин отмывали в среде 199. Далее наносили ФИТЦ-меченные F(ab)-фрагменты антисыворотки против глобулинов белой мыши на 30 мин, отмывали 10 мин в среде 199. Срезы консервировали 50% глицерином на изотоническом растворе хлорида натрия и накрывали покровными стеклами. Специфическую реакцию учитывали на микроскопе «Leitz Orthoplan» (ФРГ).

Для характеристики иммунофенотипа использовали отечественные и зарубежные моноклональные антитела: дифференцировочные антигены Т-клеток: CD5 (A50), CD7 (ИКО-87), CD4 (HP2/6), CD8 (L533); дифференцировочные антигены В-клеток: Ia-подобный антиген (ИКО-1), CD19 (HD37), CD22 (HD39); дополнительные маркеры: CD45 (Bra55), CD38 (ИКО-20), CD163 (D11).

Вторым изучаемым параметром была степень терапевтического патоморфоза [3].

Результаты и обсуждение. Местная иммунотерапия, направленная на активацию иммунных реакций в самой опухолевой ткани, в которой развиваются воспалительные реакции с инфильтрацией лимфоцитов и макрофагов, приводит в дальнейшем к морфологическим изменениям непосредственно в ткани опухоли. Эти изменения начинаются с дистрофии и некроза и заканчиваются образованием грануляционной ткани, замещающей опухолевую. В нашем исследовании влияние лечения плафероном оценивали по степени выраженности «терапевтического патоморфоза».

Выраженный патоморфоз, который заключался в резком нарушении структуры опухоли за счет фиброзного замещения или обширного некроза, выявлен в 11,1% случаев. При этом опухолевые клетки с отчетливыми явлениями дистрофии обнаруживались в виде разрозненных групп среди фиброзной, грануляционной ткани или полей некроза. Умеренный и слабый патоморфоз отмечен в 66% случаев, при этом основная масса паренхимы опухоли сохранена, отмечены лишь дистрофические изменения в части клеток. Лечебный патоморфоз отсутствовал в 22,2% случаев.

Область приложения противоопухолевых препаратов не ограничивается только тканью опухоли, тем более что плаферон рассматривается как препарат, влияющий на иммунную систему организма.

Комплексная оценка иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухоль, была проведена у 8 больных раком молочной железы. До плаферонотерапии выраженная инфильтрация опухоли CD5 Т-клетками выявлялась в 25% (у 2 из 8 пациенток) случаев. Частота выявления маркеров субпопуляций (CD4 и CD8) составила для Т-хелперов 25% (у 2 из 8) и для Т-супрессоров 38% (у 3 из 8).

Очень редко встречалась выраженная инфильтрация опухоли В-клетками: так, В-клеточные маркеры CD19 и CD22 выявлялись лишь в 12% (у 1 из 8) наблюдений.

После плаферонотерапии в 62% (у 5 из 8) случаев отмечалось повышение CD5 Т-клеток и в 38% (у 3 из 8) — CD7 Т-клеток и только в 1 из 8 случаев выявлялось снижение CD5 и CD7 клеток.

В 25% (у 2 из 8) случаев наблюдалось повышение уровня инфильтрации за счет CD4 Т-хелперов и в 38% (у 3 из 8) повышение CD8 Т-супрессоров. Однако в 25% (у 2 из 8) случаев отмечалось снижение количества CD8 Т-клеток.

solution and covered with cover glasses. Specific reactivity was studied using a Leitz Orthoplan (FRG) microscope.

The following domestic and foreign monoclonal antibodies were used for immunophenotyping: T-cell differentiation antigens, CD5 (A 50), CD7 (ICO-87), CD4 (HP 2/6), CD3 (L 533), B-cell differentiation antigens, Ia-like antigen (ICO-1), CD19 (HD 37), CD22 (HD 39); supplementary markers: CD45 (Bra55), CD38 (ICO-20), CD163 (D 11).

Therapeutic pathomorphosis [3] was another parameter to be evaluated.

Results and Discussion. Local immunotherapy aimed to activate immune reactivity of tumor tissue in which inflammatory reactions with lymphocyte and macrophage infiltration are in progress results in morphological alteration of the tumor tissue itself. The alteration begins with dystrophy and necrosis to end with generation of granulation tissue replacing the neoplastic one. We also evaluated the effect of plaferon therapy in terms of degree of therapeutic pathomorphosis.

Marked pathomorphosis, i.e. significant alteration of tumor structure due to fibrous substitution or wide necrosis, was found in 11.1% of the cases. Groups of tumor cells with marked dystrophy were found in fibrous, granulation tissues or in necrotic areas. Mild to moderate pathomorphosis was found in 56% of the patients. The most part of tumor parenchyma was preserved, the dystrophic changes being observed in a portion of cells only. No pathomorphosis was detected in 22.2% of the cases.

The antitumor therapy may be performed in other than tumor sites, more so since plaferon acts on the immunity system.

Complex assessment of immunocompetent cell infiltration of the tumor was made in 8 breast cancer patients. Before plaferon therapy 25% (2/8) of the patients presented with marked CD5 T-cell tumor infiltration. Markers of T-helper subpopulations (CD4 and CD8) were found in 25% (2/8) and those of T-suppressors in 38% (3/8) of the cases.

Tumor infiltration with B-cells was less frequent: B-cell markers CD19 and CD22 were found in 12% (1/8) of the cases only.

After plaferon therapy there was a rise in CD5 T-cells in 62% (5/8) and in CD7 T-cells in 38% (3/8) of the cases while a fall in CD5 and CD7 was observed in 1/8 cases only.

Infiltration due to CD4 T-helpers rose in 25% (2/3) and due to CD8 T-suppressors in 38%, though there was a fall in CD8 T-cells in 25% (2/8).

B-lymphocyte infiltration increased due to CD19 in 25% (2/8) and due to CD22 in 38% (3/8) of the cases. The number of plasmocytes, terminal B-cell differentiation cells, increased in 25% (2/8) of the cases. Most characteristic was positive changes in macrophage reactivity (62%, 5/8).

Our findings suggest that intratumoral therapy with plaferon in breast cancer causes dystrophic and necrotic changes directly in the tumor tissue with the local effect of plaferon immunotherapy manifesting itself as a rise in immunocompetent cells infiltrating the tumor such as CD5 T-lymphocytes and D11 macrophages.

Thus, plaferon may be recommended as a promising immunomodulator in breast cancer.

We continue our study to find whether patients' immunity characteristics are improved in parallel with clinical effect of plaferon.

Уровень В-лимфоцитарной инфильтрации увеличился по CD19 в 25% (у 2 из 8), а по CD22 в 38% (у 3 из 8) наблюдений. Количество клеток терминального этапа дифференцировки В-ряда — плазмочитов — возросло в 25% (у 2 из 8) случаев. Особенно характерной была динамика (положительная) макрофагальной реакции — у 62% (у 5 из 8) больных.

Из представленных данных следует, что плаферон, вводимый внутритуморально при раке молочной железы, обладает способностью вызывать дистрофические и некротические изменения непосредственно в опухолевой ткани, а местный эффект иммунотерапии плафероном проявляется увеличением количества иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухоль за счет CD5 Т-клеток и макрофагов D11.

Таким образом, несомненна перспективность использования иммуномодулятора плаферона в комплексном лечении рака молочной железы.

© Коллектив авторов, 1999
УДК 329-006.6-089.168.1-08

А. П. Плесков, Е. С. Горобец, С. П. Свиридова

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ РАННЕГО ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПИЩЕВОДА

Отдел анестезиологии и реаниматологии ОНЦ РАМН

Введение. В течение последнего десятилетия хирургия пищевода пережила революционные изменения, связанные с созданием надежных пищеводно-желудочных анастомозов. У хирургов-онкологов появилось закономерное желание расширить показания к хирургическому лечению больных, считавшихся ранее неоперабельными как вследствие распространенности процесса, так и в функциональном отношении [6].

Онкологические операции на пищеводе продолжительны, сопровождаются тяжелой травмой с мощной патологической импульсацией. Происходит массивное разрушение тканей в средостении, грудной и брюшной полостях, прямому механическому воздействию подвергаются легкие, трахея и бронхи, нервные стволы и сплетения, камеры сердца и магистральные сосуды. Значительная часть операции проходит в условиях одноклассической вентиляции.

Поддержание адекватной гемодинамики и перфузии тканей во время операций на пищеводе требует агрессивной вolemической поддержки, нередко в сочетании с катехоламинами. Выбор же оптимального объема и состава инфузионной терапии проблематичен. Это связано с исходной дисфагией, дегидратацией, низкими резервными возможностями большинства пациентов, а также спецификой хирургических вмешательств.

Набор материала продолжается с целью выявления коррекций иммунологических показателей с клиническим эффектом терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бахуташивили А. В. Иммуномодулирующее действие препарата плаферон в эксперименте и клинике: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Тбилиси, 1991.
2. Кампова-Полевая Е. Б. Современные возможности иммунотонирования и иммунотонической коррекции в процессе лечения рака молочной железы: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1989.
3. Лавникова Г. А. //Вестн. АМН СССР. — 1976. — № 6. — С. 13—19.
4. Мерабишвили Д. П., Кузнецов В. П., Бахуташивили В. И. Плаферон, новый отечественный препарат, синтезированный клетками амниотической оболочки плаценты человека. — Тбилиси, 1995.

Поступила 16. 10. 97/Submitted 16. 10. 97

A.P.Pleskov, E.S.Gorobets, S.P.Sviridova

EARLY POSTOPERATIVE HEMODYNAMIC PROFILE IN ESOPHAGEAL CANCER PATIENTS

Anesthesiology and Resuscitation Department, CRC RAMS

Introduction. Over the last decade esophageal surgery experienced dramatic changes associated with reliable esophago-gastric anastomosis. It stood to reason to widen indications to the surgery for patients previously considered inoperable both due to disease advance and functional impairment [6].

Esophageal cancer operations are long lasting and highly traumatic procedures leading to mediastinal, thoracic and abdominal tissue destruction, causing mechanical damage of the lungs, trachea and bronchi, nervous stems and plexuses, heart and major vessels. A large part of the surgery proceeds under single lung ventilation.

Aggressive volemical support sometimes in combination with catecholamines is required to maintain adequate tissue hemodynamics and perfusion during esophageal surgery. Choice of optimal extent and composition of the infusion therapy is difficult due to initial dysphagia, dehydration, poor physical reserves of most patients as well as to specific features of the surgical procedures.

The patients' early postoperative period is characterized by hypovolemia, tissue hyperhydration and hypoproteinaemia. Many cases present with respiratory [9] and multiple organ failure of various severity.

Rational infusion regimens are an important component of intense care for cancer patients undergoing wide surgery.