

УДК 612.017:615-032.277.3:611.81-006.04

СОСТОЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА У НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ЭНДОЛЮМБАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

© 2007 г. *Е.Ю. Златник, С.В. Григоров, К.Г. Айрапетов, А.Ю. Романовский, Е.А. Никипелова*

In contrast to autoliquorochemotherapy autoliquoroimmunotherapy produces favourable effect on immune status of patients with primary brain tumours of low degree of malignancy (increase of the level of CD4+cells, T-lymphocytes and their functional activity) and doesn't cause immunodepression in patients with brain tumours of high degree of malignancy.

Несмотря на комбинированное (комплексное) лечение больных с первичными опухолями головного мозга (ОГМ), включающее удаление опухоли, лучевую и химиотерапию в различных модификациях, результаты его остаются неудовлетворительными, а проблема поиска новых способов терапии при этой патологии по-прежнему актуальной. Отсутствие выраженного клинического эффекта обуславливает поиск новых путей в лечении этих опухолей. Большие надежды в решении проблемы увеличения продолжительности жизни больных ОГМ в настоящее время возлагаются на иммунотерапевтические методы [1, 2]. Положительной чертой иммунотерапевтических подходов является сочетание их с другими традиционными методиками и, более того, способность компенсировать иммунодефицитные состояния, возникающие у онкологических больных [3].

Для вторичного иммунодефицита, возникающего при злокачественных опухолях, характерно снижение количественных и функциональных показателей клеточного иммунитета, затрагивающих Т-лимфоциты, NK-клетки, моноциты/макрофаги, а также другие клетки, значимые для обеспечения эффективной противоопухолевой защиты.

Среди апробированных иммунотерапевтических методик, цитокиновая иммунотерапия с использованием интерлейкина-2 (IL-2), показала низкую эффективность, так как введение адекватных доз интерлейкина сопряжено с осложнениями, в первую очередь, с отеком мозга. Также выявлена невысокая эффективность при клиническом исследовании ЛАК-терапии. Существенным недостатком длительного применения рекомбинантных интерферонов (ИФН) является формирование антиинтерфероновых антител, появление которых сводит на нет трудоемкую и дорогостоящую терапию [4, 5].

Мы предлагаем использовать индукторы интерферона, направленные на стимуляцию в организме образования собственного эндогенного ИФН. Это высокомолекулярные природные и синтетические полимеры (ларифан, ридостин, полудан) и клинически наиболее перспективные низкомолекулярные препараты – циклоферон и амиксин, которые характеризуют следующие особенности:

– в отличие от наиболее широко используемых в настоящее время рекомбинантных ИФН они не об-

ладают иммуногенностью;

– синтез ИФН при введении индукторов сбалансирован и контролируется организмом, что предотвращает побочные эффекты, наблюдаемые при передозировках ИФН;

– даже однократное введение индукторов приводит к длительной продукции ИФН в терапевтических дозах;

– индукторы ИФН вызывают образование провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Это обстоятельство позволяет рассматривать эти препараты как биорегуляторы цитокиновой сети [6]. Циклоферон как низкомолекулярный индуктор интерферона способен преодолевать гематоэнцефалический барьер и вызывать образование интерферона в ликворе.

Под воздействием иммунотерапии усиливается проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), в результате субпопуляции лимфоцитов CD8, CD 16, CD25 способны проникать через ГЭБ и лизировать опухолевые клетки [7, 8]. У циклоферона также выявлена способность вызывать сенсibilизацию опухоли к химиопрепаратам.

Метод введения химиопрепаратов на аутоликворе – аутоликворохимиотерапия (АЛХТ) – был предложен академиком РАН и РАМН Ю.С. Сидоренко и разработан в отделении опухолей ЦНС РНИОИ, где с 2002 г. широко применяется в комплексном лечении нейроонкологических больных [9, 10].

Предлагаемый нами метод лечения основан на применении АЛХТ с проведением иммунокорригирующей терапии циклофероном – аутоликвороиммунохимиотерапия (АЛИХТ).

Целью работы было сравнительное исследование иммунологического статуса у больных с первичными ОГМ при различных вариантах эндолюмбальной химиотерапии.

Методика исследования

В работе представлены результаты лечения и обследования 40 больных первичными опухолями полушарий головного мозга, находившихся в отделении нейрохирургии Ростовского научно-исследовательского онкологического института за период 2005–2006 гг., среди которых 19 (47,5 %) мужчин и 21 (52,5 %) женщина (соотношение 0,9:1), возраст варьировал от 18 до

64 лет (средний – 44 года). Адьювантная АЛИХТ была проведена 18 больным – суммарно 32 курса, составившим основную группу. АЛИХТ проводилась 22 больным – всего 41 курс, составившим контрольную группу. Распределение по гистологическим типам опухолей в изучаемых группах было следующим (таблица).

Количество больных в исследуемых группах по гистотипу опухоли

Группа	Глиомы НСЗ	Глиомы ВСЗ	Менингиомы
АЛИХТ (n=18)	3	11	4
АЛИХТ (n=22)	5	12	5
Всего (n=40)	8 (20 %)	23 (57,5 %)	9 (22,5 %)

По гистологической структуре опухоли были разделены на три группы: 1) глиальные опухоли I–II степени анаплазии (низкой степени злокачественности – НСЗ) – 8 чел. (20 %); 2) глиальные опухоли III–IV степени анаплазии (высокой степени злокачественности – ВСЗ) – 23 чел. (57,5 %); 3) менингиомы – 9 чел. (22,5 %). Верификация диагноза во всех случаях была гистологическая.

План обследования больных включал неврологический осмотр, КТ и/или МРТ головного мозга с контрастным усилением, общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, а так же на RW, ВИЧ, HBs-антиген, гепатит С. Морфологический диагноз устанавливается на основании светооптического и (в ряде случаев) гистохимического исследования препаратов, полученных во время «радикального» или циторедуктивного хирургического вмешательства.

Субъективная оценка основных симптомов заболевания (головная боль, головокружение, тошнота, рвота, слабость) осуществлялась с использованием прямой и обратной 4-балльной рейтинговой шкалы ВОЗ со стандартизированными критериями оценки выраженности каждого симптома. После клинического и КТ-диагноза внутримозговой опухоли пациентам обеих групп выполняется циторедуктивная операция.

После выполнения хирургического этапа комплексного лечения все больные распределены на основную и контрольную группы с разделением каждой на 3 подгруппы: больные с глиомами высокой (ВСЗ) и низкой (НСЗ) степени злокачественности и с менингиомами. Набор групп для исследования произведен в соответствии с выработанными критериями (возраст, гистотип опухоли, объем оперативного вмешательства, сопутствующая патология).

Через 4 недели после проведения оперативного вмешательства проводился курс лучевой терапии в соответствии с современной тактикой лечения опухолей головного мозга. Адьювантную аутоликворохимиотерапию осуществляют через 2 недели после окончания курса лучевой терапии посредством введения цисплатина на аутоликворе в разовой дозе 0,2 мг интратекально через эндолумбальный катетер или путем люмбальной пункции. Второе введение осуществляется через 3–4 дня после стабилизации биохимических показателей ликвора.

В основной группе дополнительно внутривенно один раз в сутки вводили циклоферон по схеме: на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14 сут. Иммунотерапию начинали за 4 дня до проведения адьювантной АЛИХТ.

При динамичном РТК и МРТ исследованиях обращают внимание на топографические взаимоотношения опухоли со структурами головного мозга, оценивается плотность новообразования, размеры и наличие деформаций желудочковой системы головного мозга и субарахноидальных пространств, базальных цистерн, наличие перифокального отека, степень смещения срединных структур головного мозга.

Иммунологическое обследование проводилось трижды: перед курсом АЛИХТ, после 1-го и 2-го введения. В отдельных случаях больные проходили курсы химиотерапии до 5 и более раз при длительном катамнестическом наблюдении.

Иммунный статус больных до и после лечения, а также иммунологическую характеристику ликвора оценивали на градиенте фиккол верографина (плотность 1,077–1,078) с последующим отмыванием средой 199. Лимфоциты из ликвора (10 мл) выделяли центрифугированием при 1000 g в течение 10 мин. Количественное содержание Т- и В-лимфоцитов определяли в реакции спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана и мыши (РСРО) с отдельным подсчетом активных (многорецепторных) розеток; функциональную активность оценивали в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Функциональную активность В-клеток изучали в РБТЛ и ЛПС, аналогом которого является пирогенал, в дозе 50 Ед/мл при тех же условиях, что и с РБТЛ с Т-клеточными митогенами. При постановке спонтанной РБТЛ вместо митогена добавляли такой же объем культуральной среды. Субпопуляционный состав лимфоцитов изучали в непрямом иммунофлюоресцентном тесте с помощью панели моноклональных антител (CD4+, CD8+, CD16+). Обработка результатов иммунологических исследований проведена общепринятым методом с определением средней арифметической (М), средней квадратической ошибки (т). Достоверность отличий оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни-Вилкоксона.

Оценку побочных эффектов химиотерапии проводили в соответствии с критериями ВОЗ. Непосредственные результаты лечения оценивали согласно критериям эффективности по McDonald, основанным на динамике размеров опухоли по данным компьютерной и магнитно-резонансной томографии [11].

Результаты

Оценка иммунного статуса у больных с ОГМ НСЗ и ВСЗ до и после проведения химиотерапии продемонстрировала, что при ОГМ НСЗ АЛИХТ вызывает статистически достоверное повышение уровня Т-лимфоцитов крови (с $51,0 \pm 4,3$ до $61,05 \pm 1,5$ %; $p < 0,05$), а АЛИХТ приводит к увеличению содержания CD4+ и CD16+ клеток (с $24,1 \pm 1,09$ до $31,0 \pm 3,3$ %; $p < 0,05$ и $14,5 \pm 3,3$ до $18,2 \pm 2,9$ %; $p < 0,05$) и стимуляции функциональной активности Т-лимфоцитов в РБТЛ с ФГА (с $28,0 \pm 0,85$ до $34,0 \pm 2,3$ %; $p < 0,05$).

Динамика иммунологических показателей при обоих изученных методах лечения по сравнению с исходным фоном является положительной.

У больных с ОГМ ВСЗ отмечены менее значительные иммунологические изменения: проведение АЛИХТ сопровождалось повышением функциональной активности нейтрофилов (индекс активации НСТ-теста возрастал с $1,15 \pm 0,13$ до $1,5 \pm 0,12$, не достигая нормальных значений) и уровня IgM ($0,86 \pm 0,05$ до $1,17 \pm 0,05$ г/л). АЛХТ вызывает повышение уровня IgM в сыворотке крови таких больных с $7,5 \pm 0,43$ до $9,38 \pm 0,31$ г/л ($p < 0,05$).

Положительный клинический эффект подтверждался динамикой иммунологических показателей. Сравнительная характеристика показателей иммунного статуса больных с глиальными опухолями I-II степени анаплазии до и после лечения свидетельствует о стабилизации показателей Т-клеточного и В-клеточного звеньев, повышении содержания субпопуляции хелперов-индукторов и увеличении NK-клеток после проведения АЛИХТ, что является выражением ответной реакции на патологический процесс со стороны клеточного звена иммунитета.

Изучение динамики иммунологических показателей в группе больных с глиальными опухолями III-IV степени анаплазии показывает стабильное содержание общего количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD2+-рецептор, и общего количества В-лимфоцитов, экспрессирующих CD19+-рецептор. Также регистрируется постепенное увеличение содержания в крови CD3+-лимфоцитов и снижение содержания CD21+-лимфоцитов, В-лимфоцитов, экспрессирующих IgA, IgM, IgG на мембране клеток. Следует отметить субпопуляционный дисбаланс Т-клеточного звена, а также увеличение содержания NK-клеток после лечения. Исследование гуморального звена выявляет снижение содержания IgA в сыворотке, постепенное снижение содержания ЦИК и количества комплемента, что является свидетельством стабилизации воспалительного процесса.

Таким образом изученные методы эндолумбальной химиотерапии оказывают благоприятное действие на иммунный статус больных с опухолями головного мозга НСЗ (повышение уровня CD4+-клеток, Т-лимфоцитов и

их функциональной активности) и не вызывают иммунодепрессии у больных с ОГМ ВСЗ. Проведение АЛИХТ приводит к наиболее позитивным иммунологическим изменениям, регистрируемым в периферической крови при ОГМ НСЗ, и способствует более эффективному восстановлению гематоэнцефалического барьера при ОГМ ВСЗ по сравнению с АЛХТ.

Полученные положительные клинико-иммунологические изменения при АЛИХТ свидетельствуют о меньшей нейротоксичности по сравнению с АЛХТ. Подтверждением этому является достоверное улучшение после АЛИХТ объективных и субъективных клинических проявлений, определенных по прямой и обратной 4-балльной рейтинговой шкале ВОЗ.

Литература

1. Голанов А.В. Глиобластомы больших полушарий головного мозга: результаты комбинированного лечения и факторы, влияющие на прогноз: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 1999.
2. Голанов А.В. Совершенствование методов диагностики и лечения злокачественных супратенториальных глиом: // Докл. на отчетной науч. конф. НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. М., 1997.
3. Сидоренко Ю.С. Аутомиело- и аутоликворохимиотерапия новообразований ЦНС и других злокачественных опухолей. Ростов н/Д, 2004.
4. Городецкий В.М. // Гематология и трансфузиология. 1998. Т. 43. № 1. С. 52–58.
5. Короткевич Е.А. и др. Локальная химиотерапия цисплатином в лечении супратенториальных глиальных опухолей: III съезд нейрохирургов России. СПб., 2002. С. 116.
6. Лисяный Н.И. и др. Глиомы и иммунная система организма: III съезд нейрохирургов России. СПб., 2002. С. 122.
7. Абрамов В.В. и др. Нервная и иммунная системы в канцерогенезе. Новосибирск, 1998. С. 102.
8. Лисяный Н.И. и др. Коррекция иммунных нарушений индукторами интерферона при комбинированном лечении глиом 3–4 степени анаплазии: III съезд нейрохирургов России. СПб., 2002. С. 123.
9. Григоров С.В. Аутоликворохимиотерапия в комплексном лечении опухолей головного мозга: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д, 2004.
10. Олюшин В.Е. и др. // Актуальные вопросы неврологии и нейрохирургии: Сб. мед. науч. тр. Ростов н/Д, 2002.
11. Гайдар Б.В. и др. // Практическая нейрохирургия. СПб., 2002. С. 647.