



М Е Д И Ц И Н С К И Й Ж У Р Н А Л

ФАРМАТЕКА

ОСНОВАН В 1993 ГОДУ

РУКОВОДСТВА И РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕМЕЙНЫХ ВРАЧЕЙ И ТЕРАПЕВТОВ



11 [126]
2006

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ
ТЕРАПИЯ
ИНФЕКЦИЙ НИЖНИХ
ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ**

**ЛЕЧЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ
ФОРМ АРТЕРИАЛЬНОЙ
ГИПЕРТЕНЗИИ**

**ИБС
И АНЕМИЧЕСКИЙ
СИНДРОМ**

**ПРЕПАРАТЫ
БЕНФОТИАМИНА
В ЛЕЧЕНИИ
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ
ПОЛИНЕЙРОПАТИИ**

**ПРИМЕНЕНИЕ
ИНГАРОНА
В ОНКОЛОГИИ**

С О В Р Е М Е Н Н А Я Ф А Р М А К О Т Е Р А П И Я Д Л Я В Р А Ч Е Й

ИНГАРОН (ИНТЕРФЕРОН ГАММА) В СОЧЕТАНИИ С ХИМИОТЕРАПИЕЙ В ЛЕЧЕНИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

М.Е. Абрамов, З.Г. Кадагидзе, Е.Г. Славина,
А.И. Черткова, М.Р. Личиницер
РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Интерфероны (ИФН) представляют собой семейство цитокинов, обладающих множественным биологическим действием. Они были первыми цитокинами, продемонстрировавшими эффективность в терапии рака. Применение ИФН улучшало и качество, и продолжительность жизни больных при различных злокачественных новообразованиях. Противоопухолевый эффект ИФН является комплексным. Он может реализовываться путем как прямого влияния на пролиферацию и дифференцировку опухолевых клеток, так и модуляции иммунного ответа на опухоль, а также путем модуляции ангиогенеза.

Интерферон- γ и механизмы его действия

Лимфоцитарный иммунный ИФН- γ является ключевым цитокином естественного и адаптивного иммунитета. Он играет центральную роль в защите организма от патогенных микроорганизмов и представляет собой необходимый компонент системы иммунологического надзора и регуляции опухолевого роста. Нарушение продукции этого цитокина повышает чувствительность организма к инфекционным заболеваниям, а также способствует развитию опухолей. ИФН- γ вырабатывается активированными Т-лимфоцитами и НК-клетками. Его продуцентами являются как цитотоксические CD8⁺, так и хелперные CD4⁺-клетки. При этом способность вырабатывать ИФН характерна только для Th1-, но не для Th2-клеток.

ИФН- γ играет важную роль в иммунорегуляции. Он участвует в обеспечении взаимосвязи между лимфоцитами и макрофагами, стимулирует антиген-презентирующую функцию макрофагов, усиливает продукцию ими интерлейкинов I и 12, регулирует соотношение клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа. ИФН- γ усиливает развитие клеточного иммунитета и подавляет гуморальный иммунный ответ. Кроме того, он повышает экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости (МНС) I и II классов на поверхности опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*. Наличие на опухолевых клетках молекул МНС I и II классов необходимо для формирования специфического противоопухолевого им-

мунного ответа. ИФН- γ оказывает и прямое антипролиферативное действие на опухолевые клетки, индуцирует их апоптоз как *in vitro*, так и *in vivo*. Его противоопухолевое действие связано также с его способностью активировать НК-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги. Таким образом, противоопухолевое действие ИФН- γ обусловлено комбинацией его иммуномодулирующей активности, прямого антипролиферативного эффекта на опухолевые клетки и подавлением ангиогенеза.

Особый интерес вызывают данные о том, что применение ИФН- γ при метастатической меланоме повышает экспрессию антигенов МНС на опухолевых клетках, индуцирует повышение маркеров моноцитоидной активации и усиливает эффективность цитостатической химиотерапии.

Ингарон – рекомбинантный ИФН- γ человека, состоит из 144 аминокислотных остатков, лишен первых трех аминокислотных остатков – Cys–Tyr–Cys, замененных метионином. Его молекулярная масса составляет 16,9 кДа. Получен путем микробиологического синтеза в рекомбинантном штамме *Escherichia coli* и очищен с помощью колоночной хроматографии.

Мы провели клинико-иммунологическое изучение комбинации Ингарона с химиотерапией при некоторых злокачественных опухолях человека. В ходе исследования были поставлены следующие задачи:

1) изучить эффективность и переносимость комбинации Ингарон + химиотерапия при диссеминирован-

ной меланоме кожи, раке молочной железы, раке шейки матки;

2) дать характеристику показателей иммунитета и уровней цитокинов при использовании Ингарона.

Материал и методы

Режимы лечения

1. Ингарон + дакарбазин + ломустин + цисплатин при диссеминированной меланоме кожи. Ежедневно в течение 5 дней до начала химиотерапии вводили Ингарон подкожно в дозе 500 тыс. ЕД, а при наличии внутрикожных метастазов – дополнительно в опухоль в дозе 500 тыс. ЕД в те же дни. В 1-й день химиотерапии назначались дакарбазин, 250 мг/м², внутривенно струйно и ломустин, 80 мг/м², внутрь через 3 часа после введения дакарбазина. Во 2-й день вводился только дакарбазин, 250 мг/м², внутривенно струйно. В 3-й день вводился дакарбазин, 250 мг/м², внутривенно струйно, через час – цисплатин, 80 мг/м², со стандартной гидратацией. Перерыв между курсами химиотерапии составлял 5 недель. В этот период (2–4 недели) продолжалось лечение Ингароном подкожно 3 раза в неделю в указанной выше дозе.

Для предотвращения побочных эффектов, связанных с применением Ингарона при первых его введениях, больным назначали парацетамол, 500 мг, внутрь за 30 минут до инъекции. В последующем необходимости в использовании парацетамола не было в связи с отсутствием температурной реакции.

2. Ингарон + доксорубин + циклофосфамид + фторурацил при местнораспространенном или диссеминированном раке молочной железы. Ежедневно в течение 5 дней до начала химиотерапии вводили Ингарон подкожно в дозе 500 тыс. ЕД. В 1-й день химиотерапии вводили доксорубин, 50 мг/м², внутривенно, циклофосфамид, 500 мг/м², внутривенно, фторурацил, 500 мг/м², внутривенно струйно. Перерыв между курсами химиотерапии составлял 3 недели. В этом интервале Ингарон вводился 3 раза в неделю в указанной выше дозе.

3. Ингарон + цисплатин + паклитаксел при плоскоклеточном раке шейки матки. Ежедневно в течение 5 дней до начала химиотерапии вводили Ингарон подкожно в дозе 500 тыс. ЕД и дополнительно в опухоль в той же дозе. В 1-й день химиотерапии вводили паклитаксел, 175 мг/м², в виде 3-часовой внутривенной инфузии со стандартной премедикацией, цисплатин, 75 мг/м², со стандартной гидратацией и стандартной антиэметической терапией. Перерыв между курсами химиотерапии составлял 3 недели. В этом интервале Ингарон вводился 3 раза в неделю в указанной выше дозе.

Обследование больных

Обследование больных (лабораторные и инструментальные методы) для оценки динамики измеряемых и оцениваемых очагов проводилось до начала лечения и после каждых двух курсов. Оценка эффективности лечения осуществлялась по критериям RECIST. Токсичность режимов лечения оценивалась по шкале токсичности Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC), версия 3.

В лаборатории клинической иммунологии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН изучалось влияние терапии Ингароном в сочетании с химиотерапией на основные показатели иммунологической реактивности организма у больных меланомой, раком молочной железы и раком шейки матки на разных этапах лечения (до начала терапии и после каждых двух курсов). У всех пациентов анализировали:

- субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови (CD3,

CD5, CD7, CD4, CD8, HLA-DR, CD38, CD25, CD50, CD16, CD11b, CD20, CD95, CD45RA и CD71);

- активность NK-клеток;
- показатели гуморального иммунитета (иммуноглобулины G, A, M).

Лимфоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови больных путем центрифугирования на градиенте плотности фиколл-верографина (d = 1,076 г/л). Популяционный состав лимфоцитов изучали путем цитофлуориметрии при помощи панели моноклональных антител к дифференцировочным антигенам лимфоцитов человека на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) с использованием коммерческого пакета программ сбора и анализа данных CellQuest.

Процентное содержание основных субпопуляций лимфоцитов – CD3⁺ (Т-клетки), CD5⁺ (Т-клетки), CD7⁺ (Т-клетки, NK-клетки), CD4⁺ (Т-хелперы), CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты, NK-клетки), HLA-DR⁺ (В-лимфоциты, активированные Т-лимфоциты), CD38⁺ (активированные лимфоциты, NK-клетки), CD25⁺ (активированные Т- и В-клетки, регуляторные Т-клетки), CD20⁺ (В-клетки), CD16⁺ (NK-клетки), CD11b⁺ (NK-клетки), CD95⁺ (Fas/Apo-1 антиген, опосредующий апоптоз), CD71⁺ (рецептор трансферрина), CD45RA⁺ (наивные Т и В-лимфоциты, NK-клетки), CD50⁺ (молекула адгезии) – определяли путем не прямой иммунофлуоресценции с неокрашенными антителами и последующим окрашиванием FITC-меченым Fab-фрагментом кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши. Активность NK-клеток изучали в цитотоксическом тесте против линии клеток эритролейкемии K-562 в модификации с помощью полуавтоматического спектрофотометрического МТТ-теста.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета статистических программ “Статистика” и компьютерной программы SigmaPlot for Windows (Jandel Corporation, USA) с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни; связь между факторами определяли путем вычисления коэффициента корреляции.

Рис. 1. Изменения содержания CD16⁺-лимфоцитов у больных меланомой при лечении Ингароном в сочетании с химиотерапией

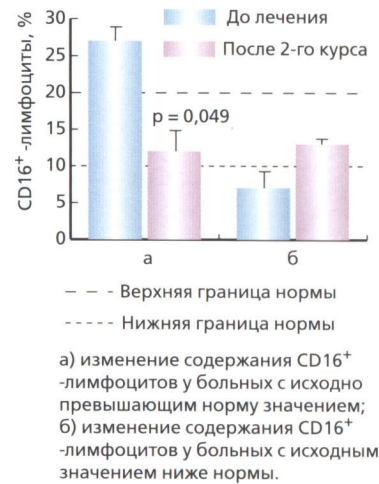
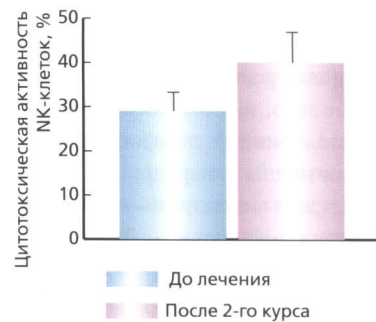


Рис. 2. Влияние терапии Ингароном в сочетании с химиотерапией на цитотоксическую активность NK-клеток у больных меланомой

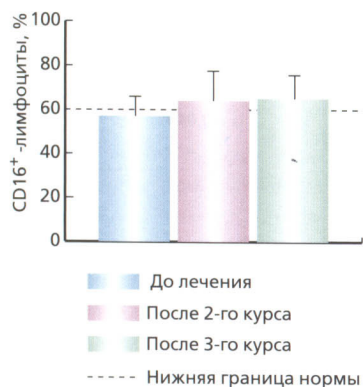


Результаты

Данные иммунологических исследований

Исследование иммунологического статуса проводилось у больных распространенными формами злокачественной меланомы, раком шейки матки и молочной железы. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных меланомой показало, что практически у всех пациентов после двух курсов терапии отмечалось повышение процента лимфоцитов, экспрессирующих маркер Т-лимфоцитов CD5, по сравнению с исходным уровнем. Практически у всех больных до лечения отмечались нарушения процентного содержания NK-клеток (CD16⁺):

Рис. 3. Изменения содержания CD16⁺-лимфоцитов у больных раком шейки матки при лечении Ингароном в сочетании с химиотерапией



это выражалось как в увеличении показателя выше нормы, так и в его снижении ниже нормы. После двух курсов лечения наблюдалась нормализация содержания NK-клеток (CD16⁺) вне зависимости от их исходного уровня (рис. 1). При этом цитотоксическая активность NK-клеток практически у всех больных возрастала по сравнению с исходным уровнем (рис. 2).

Кроме того, наблюдалось снижение процента наивных лимфоцитов, экспрессирующих маркер CD45RA. И, хотя этот показатель оставался в пределах нормы, различие было статистически значимым (p = 0,019).

Обследование больных раком шейки матки показало, что у большинства па-

циентов до начала лечения процент Т-лимфоцитов CD3⁺ был ниже нормы. В процессе терапии произошло повышение этого показателя до нормы (рис. 3). У обследованных больных до лечения был повышен процент лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR, но после проведенной терапии наблюдалось снижение этого показателя до нормальных значений. У части больных раком шейки матки до лечения определялось значительно превышающее норму количество CD25⁺-лимфоцитов. В процессе лечения процент этих клеток у большинства больных снижался до нормы. Следует отметить, что маркер CD25 является не только показателем активации лимфоцитов, но и в значительной степени маркером регуляторных Т-клеток, препятствующих эффективному иммунологическому ответу на опухоль.

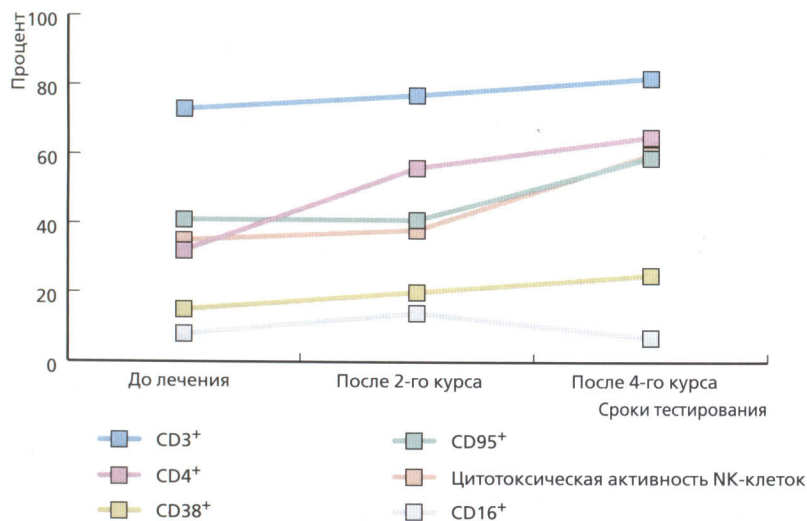
Одновременно происходила нормализация процента лимфоцитов, экспрессирующих рецептор трансферрина CD71, уровень которых до лечения был выше нормы.

Особый интерес представляет анализ иммунологических данных у больных с клиническим эффектом. В качестве примера можно привести данные больной М (рис. 4), у которой проведенное лечение привело к полному клиническому эффекту. Иммунологическое обследование выявило повышение уровня лимфоцитов, экспрес-

сирующих маркеры CD3, CD4, CD38 и CD95. Несмотря на то что процент CD16⁺-клеток в процессе терапии практически не изменялся, цитотоксическая активность естественных киллеров возрастала. Таким образом, клинический эффект сопровождался улучшением иммунологических показателей. У больной после четырех курсов лечения была выполнена радикальная мастэктомия. По данным гистологического исследования удаленного материала был отмечен патоморфоз IV степени.

Проведенное исследование влияния терапии Ингароном на основные показатели иммунологической реактивности показало, что препарат оказывает иммуномодулирующее действие у больных меланомой, раком шейки матки и раком молочной железы. Это проявлялось тенденцией к повышению процента лимфоцитов, экспрессирующих CD5, нормализацией содержания CD3⁺-, CD71⁺-, CD25⁺- и HLA-DR⁺-лимфоцитов. Наиболее интересным представляется влияние Ингарона на естественные киллеры. Препарат приводит к нормализации как повышенного, так и пониженного содержания CD16⁺-клеток. При этом цитотоксическая активность NK-клеток возрастает. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о том, что Ингарон может играть очень важную роль в повышении результативности химиотерапии при злокачественных опухолях.

Рис. 4. Изменения содержания CD3⁺-, CD4⁺-, CD38⁺-, CD95⁺-, CD16⁺-лимфоцитов цитотоксической активности NK-клеток при раке молочной железы в процессе лечения Ингароном в сочетании с химиотерапией



Клинические данные об эффективности комбинации Ингарона с химиотерапией при злокачественных опухолях

В исследование были включены восемь пациентов (двое мужчин, шесть женщин) с диссеминированной меланомой, средний возраст которых составлял 58 лет (от 49 до 67 лет). Все больные имели распространенную форму заболевания (более двух очагов, в т. ч. с поражением висцеральных органов, мягких тканей и костей).

Ранее включенным в исследование больным не проводилось лечение по поводу диссеминации болезни. Все они имели гистологически или цитологически верифицированный диагноз.

На сегодня больным проведен 31 курс химиотерапии (от двух до шести курсов). Все пациенты были обследованы после двух курсов лечения. Ни в одном случае не зафиксировано прогрессирования болезни. В настоящий момент все пациенты продолжают лечение согласно протоколу. Эффективность лечения составляет:

- полная ремиссия болезни (гистологически подтвержденная) в одном (12,5 %) случае;
- частичная ремиссия в двух (25 %) случаях;
- стабилизация болезни в пяти (62,5 %) случаях.

Таким образом, за короткий период от начала лечения полная и частичная ремиссия достигнута у 37,5 % больных, прекращение роста опухоли — еще у 62,5 %.

В этой группе пациентов проведено 398 системных введений Ингарона. При анализе побочных эффектов не было выявлено какой-либо значимой токсичности, связанной с назначением этого препарата. Отмечены лишь трехкратное повышение температуры тела до 37,5 °С и ринорея I степени (купировалась самостоятельно) у одного пациента.

Гематологическая токсичность режима Ингарон + дакарбазин + ломустин + цисплатин является незначительной и обратимой. Только в 2,6 % курсов отмечалась нейтропения IV степени, фебрильной нейтропении отмечено не было. В двух случаях в связи с нейтропенией и тромбоцитопенией IV степени потребовалась редукция доз ломустина и цисплатина на 25 %, в одном случае — повторная редукция доз

этих препаратов на 25 %. После этого лечение было продолжено уже без выраженной токсичности. В трех случаях лечение пришлось отложить на неделю в связи с гематологической токсичностью. Во время одного курса лечения потребовалось однократное переливание тромбоконцентрата в связи с тромбоцитопенией IV степени.

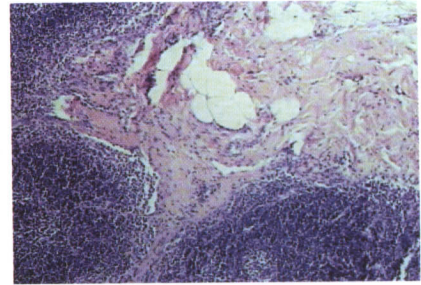
В сопоставлении с историческим контролем полученные результаты дают основание предполагать, что Ингарон повышает эффективность химиотерапии при диссеминированной меланоме кожи. Ниже представлены случаи эффективного лечения этого заболевания при назначении указанной терапии.

Больная А. 56 лет. Диагноз: меланома кожи спины, состояние после оперативного лечения, метастазы в подмышечные и шейно-надключичные лимфоузлы слева.

Гистологическое исследование опухоли: эпителиоидноклеточная пигментная меланома с участками веретеноклеточного строения. Определяются метастазы в подмышечные и шейно-надключичные лимфоузлы от 1,0 до 1,4 см. Цитологическое исследование: меланома (пунктат подмышечных лимфоузлов слева).

После четырех курсов лечения Ингароном в сочетании с химиотерапией: доказан полный регресс по данным ультразвуковой томографии, при цитологическом исследовании лимфоузла обнаруживается детрит. После 4-го курса лечения пациентке выполнена также подмышечная лимфаденоэктомия слева. По данным гистологического исследования удаленного мате-

Рис. 5. В удаленном лимфоузле склероз, опухоль не определяется



риала данных за опухолевое поражение не получено (рис. 5). Длительность ремиссии от начала лечения составила 7+ месяцев.

Больной А. 56 лет. Диагноз: диссеминированная меланома слизистой оболочки левой половины носа, метастазы в печень (от 0,8 до 2,0 см), лимфоузлы шеи (от 0,7 до 1,5 см).

После двух курсов лечения по данным ультразвуковой томографии в печени установлен полный регресс метастазов, на шее регресс метастазов в лимфоузлы > 50 %.

После четырех курсов лечения по данным ультразвуковой томографии в печени не обнаруживаются признаки метастазов, дальнейший регресс метастазов в лимфоузлы. Лечение продолжено.

Эффективность применения Ингарона в сочетании с химиотерапией (доксорубин + циклофосфамид + фторурацил) при раке молочной железы иллюстрируется следующим клиническим случаем.



ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ



5-6 октября 2006 года
Здание Правительства Москвы

Четвертая научно-практическая конференция
«Инфекционные болезни и антимикробные средства»
Тематическая выставочная экспозиция

Организаторы конференции:

Правительство Москвы
Департамент здравоохранения города Москвы
Информационно-выставочное агентство
«ИнфоМедФарм Диалог»

Тематические направления:

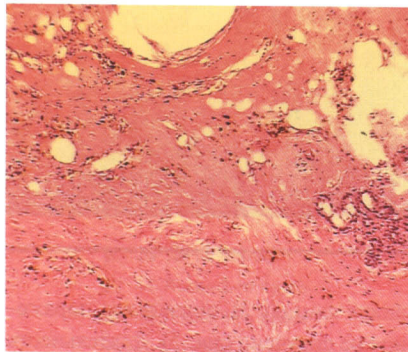
Доказательная медицина в терапии инфекционных заболеваний; проблемы детских инфекций на современном этапе; современные лечебные средства в клинике острых клинических инфекций; вирусные инфекции: гепатиты — диагностика и лечение; острые респираторные инфекции у взрослых и детей; современные методы профилактики и лечения; инфекции при беременности; иммунобиологические препараты, их роль в профилактике иммунодефицита инфекционного генеза; наиболее актуальные инфекции в т.ч. кишечные инфекции у взрослых и детей, зооинфекции и т.д.

Дополнительная информация:

ИНФОРМАЦИОННО-ВЫСТАВОЧНОЕ АГЕНТСТВО «ИНФОМЕДФАРМ ДИАЛОГ»
119034, Москва, ул. Пречистенка, 28, тел./факс: (495) 797-62-92 (многоканальный) тел.: (495) 201-45-42, 201-41-23
E-mail: info@infomedfarmdialog.ru, http://www.infomedfarmdialog.ru



Рис. 6. Патоморфоз IV степени в опухоли молочной железы после проведенного лечения (Ингарон + доксорубицин + фторурацил + циклофосфамид, 4 курса)



Больная М. 42 лет. Диагноз: рак левой молочной железы $T_4N_2M_0$ IIIВ стадии. Гистологическое исследование опухоли (биопсия до начала лечения): инфильтративно-протоковый рак, рецепторы эстрогенов, рецепторы прогестерона, HER-2/neu – отрицательные. До начала лечения молочная железа была занята опухолью размером 5 см с отеком и инфильтрацией всего органа. В подмышечной области определялись увеличенные лимфоузлы от 1,7 до 3,0 см, спаянные в конгломерат; в подключичной

области – увеличенные лимфоузлы от 0,6 до 1,2 см.

Уже после двух курсов лечения Ингароном в комбинации с химиотерапией в молочной железе определялось полное исчезновение отека, уменьшение опухоли до 1,6 см. Подключичные лимфоузлы полностью регрессировали, в подмышечной области наблюдался значительный регресс лимфоузлов (единичные от 0,6 до 1,6 см). После четырех курсов лечения установлен полный клинический регресс опухоли в молочной железе и регионарных зонах.

Больной выполнена радикальная мастэктомия слева. По данным гистологического исследования удаленного материала: патоморфоз IV степени, опухоль не определяется (рис. 6).

При раке шейки матки комбинация Ингарон + паклитаксел + цисплатин обеспечила частичный регресс опухоли у троих из четверых больных. В одном случае имела место стабилизация болезни. В настоящее время все больные продолжают лечение. В качестве клинического примера можно привести следующее наблюдение.

Больная М. 46 лет. Диагноз: рак шейки матки $T_{2a}N_xM_0$. До начала лечения при гинекологическом исследова-

нии влагалищная часть шейки матки изменена за счет опухоли размером 5,0 × 5,5 см, легко кровоточит при контакте. Отмечается переход опухоли на передний и левый боковой своды влагалища, обнаруживается инфильтрация переднего и левого бокового сводов влагалища. По данным ультразвуковой томографии: шейка матки с опухолевым узлом размером 4,2 × 5,2 см.

После двух курсов лечения Ингароном в комбинации с химиотерапией был достигнут значительный лечебный эффект. При гинекологическом исследовании экзофитный компонент опухоли шейки матки уменьшился до 3,0 × 2,0 см. Переход опухоли на передний и левый боковой своды влагалища не определяется. По данным ультразвуковой томографии: шейка матки размером 4,5 × 3,1 см с участком сниженной интенсивности без четких контуров размером 1,7 см. Эффект лечения – частичный регресс.

Таким образом, в проведенном нами исследовании впервые с использованием современных иммунологических тестов была доказана иммуномодулирующая активность Ингарона (ИНФ-γ) и эффективность его комбинаций с современными режимами химиотерапии у онкологических больных.