

Влияние Протефлазида на показатели клеточного иммунитета при проведении иммунореабилитации у больных начальными формами рака прямой кишки после проведения хирургического и химиолучевого лечения

Е.В. Калинин

Луганский государственный медицинский университет

За последние десятилетия существенно возросла заболеваемость колоректальным раком, и прежде всего, раком прямой кишки (РПК), которая в настоящее время выходит на 2-3 места в общей структуре онкопатологии [14]. Это заставляет повысить внимание онкологов и онкохирургов к проблеме ранней диагностики РПК и соответствующих методов лечения данной патологии [1,8,12].

Основным методом лечения РПК остается хирургический, заключающийся в удалении опухоли в пределах здоровых тканей, а также региональных лимфатических узлов, в которых чаще всего происходит метастазирование, с последующим проведением химиолучевой терапии [9,18,19]. Для повышения эффективности хирургического лечения РПК и обеспечения абластики, предложено проведение предоперационной лучевой терапии, что обеспечивает разрушение наиболее злокачественного, быстро размножающегося пула клеток опухоли [2,5]. При инвазии опухоли в мышечный слой прямой кишки (Т2) важным в практическом плане является вопрос об осуществлении дополнительных методов воздействия на опухоль, которые бы позволили усилить эффект лучевой терапии. Действительно, аденокарцинома прямой кишки, т.е. наиболее часто встречающаяся опухоль данного органа, как правило, имеет высокую радиорезистентность, и требует применения таких доз облучения, которые находятся на грани лучевой толерантности окружающих здоровых тканей, и даже превышают таковую [3,5].

За последние годы одним из самых перспективных в этом в этом отношении является метод локальной гипертермии злокачественной опухоли с помощью СВЧ-излучения, который позволяет нагревать непосредственно клеточные элементы опухоли, что повышает их чувствительность к лучевой терапии [3,10]. Если гипертермия непосредственно предшествует лучевой нагрузке, т.е. имеет место сочетанная термолучевая терапия, ее эффективность существенно повышается по сравнению с одной лишь лучевой терапией [3].

Перспективно также местное (паратуморальное) введение метронидазола, как средства, сенсibiliзирующего опухолевые клетки к лучевой терапии, и тем самым повышающим его эффективность [5,8,9]. В дальнейшем осуществляется химиотерапевтическое лечение РПК с использованием 5-фторурацила.

Не вызывает сомнений, что столь интенсивное воздействие на организм больных с применением лучевой терапии, средств химиотерапевтического воздействия, а также само оперативное вмешательство, обуславливает угнетение иммунной системы и формирование вторичных иммунодефицитных состояний различной степени выраженности [17]. В то же время иммунодепрессия, которая возникает у больных РПК, как и опухолями иной локализации, существенно снижает эффективность надзорной функции иммунной системы, обуславливает угнетение системы естественных киллеров (NK-клеток) и макрофагально-моноцитарной фагоцитирующей системы, которые обеспечивают элиминацию опухолевых клеток в организме [17]. Поэтому в настоящее время становится вопрос о целесообразности и необходимости проведения иммунокоррекции, направленной на восстановление количественных и качественных показателей иммунитета у онкологических больных [6].

Не менее существенным является вопрос о целесообразности и перспективности применения средств иммунореабилитации больных онкологического профиля, у которых продолжается проведение химиотерапии на протяжении известного времени. Так, при РПК, как правило, осуществляют химиотерапию 5-фторурацилом и метотрексатом на протяжении календарного года после проведения комбинированного лечения, причем за этот период осуществляют 4 курса химиотерапевтического лечения.

Целью настоящей работы явилось изучение перспективности новых препаратов растительного происхождения – протефлазида и манакса, как средств иммунореабилитации у больных с начальными формами РПК и целесообразности их включения в общий комплекс средств медицинской реабилитации пациентов в послеоперационном периоде.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 130 больных с начальными формами РПК (Т1-2 N0 M0), которые находились на стационарном лечении в Луганском областном онкологическом диспансере. Комплекс предоперационного обследования больных при их поступлении в стационар включал пальцевое ректовагинальное исследование, проведение ректоскопии, цитологического изучения мазков-отпечатков на поверхности опухоли и неизменной слизистой прямой кишки, ирригоскопии, УЗИ органов брюшной полости и малого таза, ультрасонографию с контрастированием прямой кишки 2% раствором триобраста, в количестве 100-700 мл. Осуществляли иммуноферментное определение онкомаркеров (РЭА, СА-19-9), иммунофлюоресцентный анализ (К1 67, P53), а также исходный иммунологический статус больных. При этом в качестве показателей клеточного иммунитета исследовали общее число Т (CD3+), В (CD22+) -лимфоцитов, а также субпопуляций Т-хелперов/индукторов (CD4+) и Т-супрессоров/киллеров (CD8+) в цитотоксического тесте [16] с моноклональными антителами (МКАТ). В работе использовались коммерческие МКАТ классов CD3+ (к тотальной популяции Т-лимфоцитов), CD4+ (к субпопуляции Т-хелперов/индукторов), CD8+ (к субпопуляции Т-супрессоров/киллеров), CD22+ (к общей популяции В-клеток) фирмы Ortho Diagnostic Systems Inc. (США). Вычисляли иммунорегуляторный индекс как соотношение Т-лимфоцитов с хелперной и супрессорной активностью - CD4/CD8. О функциональном состоянии Т-лимфоцитов судили по данным реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) при постановке данной реакции микрометодом и использованием в качестве митогена ФГА [7].

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием стандартных пакетов прикладных программ, рассчитанных на обработку иммунологической информации на персональном компьютере Celeron 300A.

Полученные результаты и их анализ

После получения предварительных данных о характере опухоли прямой кишки (аденокарцинома Т1-2 N0 M0) под контролем ректоскопа осуществлялась эндоскопическая электрооагуляция ложа удаленной опухоли. С видимо здоровых участков слизистой оболочки прямой кишки брали мазки-отпечатки для цитологического исследования. Осуществлялось патогистологическое изучение удаленной опухоли, главной задачей которого было уточнение характера опухолевого роста и определение глубины инвазии стенки кишки (Т1 или Т2).

В последующем больным осуществлялась терморadioхимиотерапия, методика которой была детально охарактеризована ранее [4]. Она включала дистанционную лучевую терапию с разовой дозой 2,0 Гр 1 раз в день, которая осуществлялась методом ротации на гамма-терапевтической установке «Рокус». Суммарная очаговая доза лучевой терапии составляла 40 Гр. Одновременно с началом лучевой терапии (паратуморально к ложу удаленной опухоли) вводили метронидазол (метрогил) по 100 мл 0,5% раствора через день всего 5 введений и 5-фторурацил в разовой дозе 1,0 г через день до общей суммарной дозы 5,0-7,0 г препарата.

Метронидазол (метрогил, трихопол, флагил) – химиопрепарат, который имеет широкий спектр антипротозойного действия, включая *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Lamblia intestinalis* и др., а также облигатных анаэробных бактерий, как спорообразующих, так и неспорообразующих и *Helicobacter pylori* [11]. Применение метронидазола в комплексе лечения больных РПК основывается на свойстве препарата повышать чувствительность опухолевых клеток к воздействию лучевой терапии. Кроме того, установлено, что введение метронидазола в ложе удаленной опухоли существенно уменьшает неспецифический воспалительный процесс в окружающей стенке кишки, возможно отчасти за счет подавления активности резидентной микрофлоры.

5-фторурацил (2,4-диоксо-6-фторпиримидин) является антиметаболитом, аналогом пиримидина, его фармакологическое действие связано с конкурентной ингибцией фермента тимидинсинтетазы, играющего важную роль в синтезе нуклеиновых кислот [11]. Препарат обладает высокой токсичностью, способен угнетать костномозговое кроветворение, вызывать язвенный стоматит, эрозивные процессы в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта, поэтому при его применении необходимо исследовать в динамике показатели периферической крови [11].

Методика паратуморального введения метронидазола и 5-фторурацила состоит в том, что они вводятся в подкожную жировую клетчатку, расположенную вокруг прямой кишки, через 2 точки, находящиеся на 2 см латеральнее сфинктеров заднего прохода, после обезболивания 0,5% раствором новокаина.

После завершения первого этапа химиолучевого воздействия (дистантная лучевая терапия в суммарной очаговой дозе 40 Гр, паратуморальное введение 0,5% раствора метронидазола по 100 мл через день, всего 5 введений и 5,0-7,0 г 5-фторурацила на курс лечения) осуществлялось повторное тщательное обследование больного с проведением ректоскопии, УЗИ органов малого таза и брюшной полости, иммунологического статуса пациентов, гемограммы, определения онкомаркеров РЭА, СА-19-9, КИ 67, Р53. Основной задачей исследования было выявление возможного местного рецидива и отдаленных метастазов опухоли. Тщательно исключали метастазирование в лимфатические узлы брюшной полости и печень, где наиболее часто встречается метастазирование РПК [18,19].

При отсутствии признаков рецидивирования опухоли осуществляли второй этап лечения в виде термолучевой терапии, а именно внутриволостной гамма-терапии и локальной СВЧ-гипертермии, которая осуществлялась за 3 часа перед проведением внутриволостного облучения согласно ранее описанной методике [3]. По завершении лечения повторно осуществляли ректоскопическое исследование, УЗИ органов брюшной полости и малого таза, изучали иммунологический статус пациентов, содержание в крови онкомаркеров РЭА, СА-19-9, КИ 67, Р53. В случае появления признаков рецидивирования (местный рецидив РПК) осуществляли брюшно-анальную резекцию прямой кишки (БАР ПК).

Из 130 больных, которым осуществлено лечение по данной методике, рецидивы РПК выявлены у 75 (57,7%), в связи с чем им осуществлена БАР ПК. У 55 (42,3%) рецидивы РПК отсутствовали, и потому у них удалось ограничиться лечением в «малом» объеме, т.е. органосохраняющей операцией, избавив их тем самым от калечащей операции БАР ПК.

В ходе динамического наблюдения за группой пациентов с удачными результатами лечения закономерно встал вопрос о возможности проведения им иммунореабилитации, поскольку длительное проведение лучевой и химиотерапии способствует существенному угнетению показателей иммунитета и нарушения иммунологического гомеостаза. Проведение иммунологического обследования в динамике позволило установить, что на момент завершения лучевой и химиотерапии у больных отмечается существенное нарушение иммунологических показателей (табл. 1). При этом обследование в динамике позволило отметить, что существенные сдвиги иммунитета в виде Т-лимфопении, снижения иммунорегуляторного индекса CD4/CD8. Имеют место еще до проведения хирургического удаления опухоли прямой кишки (см. табл. 1).

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета у больных начальными формами рака прямой кишки в ходе химиолучевой терапии

Показатели	Норма	Сроки обследования		
		до операции (n=66)	после 1-го этапа (n=42)	после 2-го этапа (n=35)
CD3 ⁺ %	63,9±2,2	54,4±1,6*	52,2±1,5**	48,4±1,0***
Г/л	1,28±0,04	0,92±0,03**	0,86±0,02**	0,77±0,03***
CD4 ⁺ %	45,5±1,6	36,2±1,2*	31,1±1,4*	30,2±1,2***
Г/л	0,84±0,03	0,62±0,02**	0,51±0,02**	0,48±0,02***
CD8 ⁺ %	22,6±1,1	20,6±1,0	20,3±0,9	19,4±0,8*
Г/л	0,42±0,02	0,35±0,02	0,33±0,015*	0,31±0,01*
CD4/ CD8	2,01±0,03	1,76±0,02*	1,53±0,02**	1,56±0,02**
CD22 ⁺ %	21,2±1,4	20,2±0,9	19,1±0,8	19,2±0,9
Г/л	0,39±0,02	0,34±0,02	0,31±0,01*	0,31±0,01*
РБТЛ %	69,9±2,5	42,2±2,0**	32,5±2,2***	30,2±1,8***

Примечание: в табл. 1 и 2 отличия от показателя нормы: * - при P<0,05, ** - P<0,01; *** - при P<0,001.

Повторные исследования иммунологических показателей, осуществленные после завершения 1-го и особенно 2-го этапа химиолучевой терапии показали дальнейшее углубление иммунных сдвигов: нарастала Т-лимфопения, снижение количества Т-хелперов, отмечено также умеренное уменьшение абсолютного числа Т-супрессоров/киллеров (CD 8+).

Отмечено выраженное уменьшение иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 и небольшое снижение абсолютного количества В-клеток (табл. 1). Так, число CD3⁺-лимфоцитов было снижено после завершения 2-го этапа химиолучевой терапии в среднем в 1,66 раза по сравнению с нормой (P<0,001), количество Т-хелперов в 1,75 раза (P<0,001), Т-супрессоров – в 1,35 раза (P<0,05), иммунорегуляторный индекс CD4/CD8 – в 1,3 раза (P<0,01), число В-лимфоцитов (CD22⁺) – в 1,25 раза (P<0,05). Особенно выраженное снижение отмечено в отношении показателя РБТЛ – в 2,3 раза (P<0,001), что свидетельствует о выраженном угнетении функциональной активности Т-лимфоцитов. Таким образом, полученные данные позволяют считать, что у больных с начальными формами РПК уже есть достоверные изменения иммунологических показателей, которые усугубляются по мере проведения химиолучевой терапии.

При разработке методов иммунореабилитации больных РПК после проведения химиолучевой терапии наше внимание привлекла возможность применения новых иммуноактивных препаратов растительного происхождения, которые также являются адаптогенами и рекомендованы для применения при онкопатологии как средства иммунореабилитации – манакса и протейфлазид. В настоящем сообщении мы обобщили результаты, полученные нами при изучении протейфлазида как средства иммунореабилитации больных с начальными формами РПК (Т1-2 N0 M0) после проведения у них хирургического удаления опухоли и химиолучевой терапии.

Протейфлазид – препарат отечественного производства растительного происхождения, который содержит комплекс биофлавоноидов из дикорастущих злаков, обладает выраженными адаптогенными, иммуномодулирующими свойствами и противовирусной активностью [13]. Протейфлазид зарегистрирован в Украине в качестве противовирусного препарата системного действия (регистр. удостов. №P. 02.01/0277

от 14.02.2001 г.) и рекомендуется в качестве средства лечения вирусных заболеваний (герпетическая инфекция, вирусные гепатиты), а также при вторичных иммунодефицитах различного генеза [13].

Нами впервые протекфлазид использован в качестве средства иммунореабилитации у больных РПК после проведения операции и химиолучевой терапии, в ходе II фазы клинических испытаний препарата в дальнейшем в в ходе его последующего клинического изучения. Патогенетической основой этого послужили данные об активном иммуномодулирующем эффекте протекфлазида и отсутствием у препарата мутагенных свойств [6].

Протекфлазид получали 20 больных (основная группа), группа сопоставления включала 15 пациентов. Группы были рандомизированы по полу, возрасту пациентов и характеру проведенного лечения (оперативное вмешательство и химиолучевая терапия). До начала иммунореабилитации в обеих группах были идентичные значения иммунологических показателей, что позволило их объединить (табл. 2).

Они характеризовались Т-лимфопенией, дисбалансом субпопуляционного состава Т-лимфоцитов с преимущественным снижением количества циркулирующих Т-хелперов (CD4+) и гораздо менее выраженным уменьшением числа Т-супрессоров (CD8+), в связи с чем коэффициент CD4/CD8 был снижен. Число В-лимфоцитов (CD22+) умеренно снижалось при значительном уменьшении показателя РБТЛ.

Протекфлазид назначали по 10 капель 3 раза в день на протяжении 30-40 дней подряд. В начале курса иммунореабилитации для снижения содержания в крови так называемых «средних молекул» (СМ), что мешает в полной мере реализовать действие иммуноактивных препаратов, осуществляли курс энтеросорбции на протяжении 10-12 дней, согласно имеющимся рекомендациям.

При повторном изучении иммунологических показателей было установлено, что в основной группе пациентов, которая получала протекфлазид, имело место четко выраженное иммуномодулирующее действие препарат, которое проявлялось ликвидацией Т-лимфопении, нормализацией количества Т-хелперов (CD 4+), и иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, повышением числа В-клеток и показателя РБТЛ (табл. 2).

Таблица 2

Влияние протекфлазида на показатели клеточного иммунитета у больных РПК

Показатели	Норма	Сроки обследования		
		До начала реабилитации (n=35)	После завершения реабилитации	
			основная группа (n=20)	группа сопоставления (n=15)
CD3+ %	63,9±2,2	48,4±1,6**	66,2±1,9	52,2±1,8**
Г/л	1,28±0,04	0,77±0,03***	1,19±0,03	0,89±0,03**
CD4+ %	45,5±1,6	30,2±1,2**	44,1±1,5	32,1±1,0
Г/л	0,84±0,03	0,48±0,02***	0,79±0,03	0,55±0,01
CD8+ %	22,6±1,1	19,4±0,8*	22,1±1,2	19,1±1,0*
Г/л	0,42±0,02	0,31±0,01*	0,4±0,02	0,32±0,01*
CD4/ CD8	2,01±0,03	1,56±0,02**	2,0±0,03	1,68±0,03**
CD22+ %	21,2±1,4	19,2±0,9	21,1±1,5	19,4±1,2
Г/л	0,39±0,02	0,31±0,01*	0,38±0,03	0,33±0,02
РБТЛ %	69,9±2,5	30,2±1,8***	58,7±2,1	42,2±2,0***

В группе сопоставления, которая не получала протекфлазида, тенденция к улучшению иммунологических показателей была существенно менее выражена. У больных этой группы сохранялось достоверное снижение числа Т-лимфоцитов (CD3+) и количества Т-хелперов (CD4+), и иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, а также показателя РБТЛ с ФГА. Последний в этот период был снижен в среднем в 1,66 раза по сравнению с нормой и в 1,4 раза по отношению к основной группе больных РПК, которая в качестве средства иммунореабилитации получала протекфлазид (табл. 2). При выборочном иммунологическом обследовании было установлено, что иммуномодулирующий эффект у больных сохранялся на протяжении 3-4 мес. после завершения курса иммунореабилитации. По всей видимости, целесообразно осуществлять в течение первого года диспансерного наблюдения 2-3 курса иммунореабилитации с применением протекфлазида для восстановления и поддержания на оптимальном уровне показателей иммунного гомеостаза.

Клинический опыт показал, что протекфлазид хорошо переносится больными. Поскольку он имеет приятный хлебный запах, красивый интенсивно зеленый цвет и вполне удовлетворительный вкус, больные охотно принимают препарат. Многие из них отметили, что прием протекфлазида перед едой повышает аппетит и улучшает пищеварение. Мы не наблюдали каких-либо негативных реакций на введение протекфлазида, в том числе аллергических.

Итак, на основе проведенных исследований и клинических наблюдений можно заключить, что проведение химиолучевой терапии способствует сохранению и даже прогрессированию вторичного иммунодефицита у больных с начальными формами РПК (T1-2 N0 M0). Это свидетельствует о целесообразности проведения иммунореабилитации в периоде диспансерного наблюдения, после завершения 2-го этапа химиолучевой терапии. Новый отечественный препарат растительного происхождения протекфлазид может быть средством выбора при проведении иммунореабилитации у больных РПК после проведения хирургического и химиолучевого лечения.

Л и т е р а т у р а

1. Аксель Е.М., Бармина Н.М. Колоректальный рак (заболеваемость, смертность, социально-экономический ущерб) // Росс. онколог. журн. – 1999. - № 6. – С. 40-46.
2. Барсуков Ю.А., Ткачев С.И. и др. Пред- и послеоперационная лучевая терапия в комбинированном лечении рака прямой кишки // Росс. онколог. журн. -1999. - №6. – С.13-16.
3. Барсуков Ю.А., Ткачев С.И. и др. Предоперационная термолучевая терапия в комбинированном лечении рака нижнеампулярного рака прямой кишки // Вопр. онкологии. – 1999. – Т. 45, №6. – С. 665-669.
4. Воробьев Г.И., Одарюк Т.С. и др. Предоперационная лучевая терапия с использованием 5-фторурацила как радиомодификатора в лечении местно-распространенного рака прямой кишки. (3-летние результаты) // Росс. онколог. журн. -2001. - №1. – С.4-9.
5. Дарьялова С.Л., Бойко А.В., Черниченко А.В. Принципиальные подходы и современные технологии лучевой терапии в комбинированном лечении больных злокачественными опухолями // Вопр. онкологии. – 1997. – Т.43, №5. – с. 496-499.
6. Калинин Е.В. Эффективность комбинированного лечения начальных форм рака прямой кишки // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. праць. – Київ; Луганськ; Харків, 2002 – Вип. 5 (44). – С. 207 – 214.
7. Киселева Е.П., Цвейбах А.С., Гольдман Е.И., Пигарева Н.В. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных // Иммунология. – 1985. - № 1. – С.76 – 78.
8. Комбинированное и комплексное лечение распространенного рака прямой кишки / В.И. Кныш, Г.В. Бондарь, Б.М. Алиев, Ю.А. Барсуков. – М.: Медицина, 1990. – 158 с.
9. Комплексное лечение рака прямой кишки / Воробьев Г.И., Одарюк Т.С., Симакина Е.П. // Рос. онкологич. журн. - 1998. - №3. - С. 43- 47.

10. Мардынский Ю.С., Бердов Б.А. и др. Радиобиологическое обоснование и клинические результаты термолучевой терапии злокачественных опухолей // Вопросы онкологии. – 1995. – Т. 41, №2. – С. 61-64.
11. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Вильнюс, 1994. – 545 с.
12. Правосудов И.В., Ковалев В.К. Современные принципы хирургического лечения ранних форм колоректального рака // Вопросы онкологии. – 1997. – Т.43, №3. – С. 324 – 326.
13. Протефлазид: Информационные материалы по свойствам и методикам применения. - Киев, 2002. -69 с.
14. Симонов Н.Н., Гуляев А.В. и др. Современные направления в диагностике и лечении колоректального рака // Вопросы онкологии. – 1997. – Т.43, №1. – С.27-31
15. Трапезников Н.Н., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и в странах СНГ (состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность). М., 2001. – 386 с.
16. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Баскаков И.Н. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных // Лаборат. дело. – 1989. – № 6. – С. 71 – 72.
17. Черипко О.Н. Факторы, влияющие на частоту возникновения рецидивов рака прямой кишки // Онкология. – 2002. – Т.4, №3. – С.206-208.
18. Яццкий Н.А., Нечай И.А. Современные проблемы лечения рака прямой кишки. Часть I // Вестник хирургии. – 2002. -Т. 161, №1.- С. 115-119.
19. Яццкий Н.А., Нечай И.А. Современные проблемы лечения рака прямой кишки. Часть II // Вестник хирургии. – 2002.- Т. 161, №2.- С. 115-119.