

ИММУНОКОРРЕКЦИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ИНДУКТОРОМ ИНТЕРФЕРОНА ТИЛРОНОМ У БОЛЬНЫХ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ В ПРОЦЕССЕ КОМБИНИРОВАННОГО ОРГАНСОХРАНЯЮЩЕГО ЛЕЧЕНИЯ

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины», Одесса, Украина

Ключевые слова: увеальная меланома, иммунологическая коррекция, индуктор интерферона, тилорон

Иммунная система обладает двумя механизмами противоопухолевой защиты: специфическим (Т-клеточным) и неспецифическим (естественным) иммунитетом. Активация специфического противоопухолевого иммунитета реализуется через посредничество дендритных клеток (ДК) и макрофагов. ДК – субпопуляция клеток, функция которых состоит в поглощении, обработке и презентации антигена (АГ) эффекторным иммунокомпетентным клеткам в составе молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) вместе с костимулирующими молекулами В7-1.

Для индукции иммунного ответа опухолевые антигены должны быть превращены в пептиды и представлены в контексте молекул МНС. При увеальной меланоме (УМ) отмечается дефицит молекул МНС класса. По мере прогрессирования опухолевого процесса происходит упрощение АГ-репертуара опухолевых клеток. УМ характеризуется гипоэкспрессией молекул МНС II класса на всех стадиях роста [1, 2].

Дефицит молекул МНС обуславливает слабую презентацию опухолеспецифических АГ и, как следствие, не эффективный Т-клеточный ответ со слабой инфильтрацией опухоли ТИЛ (лимфоциты инфильтрирующие опухоль). Для эффективного распознавания УМ необходимо усиление экспрессии АГ-детерминант в ее клетках.

Пока на поверхности опухолевых клеток экспрессируются молекулы МНС I класса основную роль в противоопухолевой защите играют цитотоксические Т-лимфоциты (CD 8, ЦТЛ). Однако по мере прогрессирования опухолевого процесса количество этих молекул снижается или исчезает совсем, тогда основную роль в защите начинают играть натуральные киллеры (НК, CD 16), осуществляющие АГ-независимый лизис клеток.

Неспецифический цитолитический является эффективным механизмом противоопухолевого ответа, который препятствует метастазированию при УМ. Истощение цитолитического потенциала НК (CD 16) приводит к генерализации опухолевого процесса, что подтверждает приоритет данного механизма при УМ.

Многочисленные исследования подтвердили роль НК-клеток в патогенезе заболевания и тесную их связь с процессами метастазирования [3, 4, 5].

Назначение индукторов интерферона, обладающих иммуностимулирующей активностью при проведении основных методов лечения больных УМ и нарушенной иммунной системой с целью профилактики прогрессирования и метастазирования опухоли является необходимым элементом лечения больных УМ. Иммунотерапию проводят прежде всего для восстановления нарушенных функций иммунной системы и последующей элиминации опухолевых клеток.

Индуктор интерферона тилорон способствует синтезу собственных α , β и γ интерферонов, обладающих антипролиферативным действием и активирующей цитолитическую активность лимфоцитов [6, 7].

Следует отметить, что интерферон (ИФН) способен индуцировать гены, обладающие проапоптотической активностью [8] при проведении противоопухолевых лечебных воздействий (фотокоагуляция, β -терапия), приводящих к индукции апоптоза, ИФН защищает нормальные клетки и способствует более полной элиминации поврежденных, но выживших клеток [9]. В настоящее время ИФН и его индукторы рассматриваются как наиболее эффективные противоопухолевые средства.

Цель - изучить иммуномодулирующего и рецептормодифицирующего действия индуктора интерферона (тилорона) в комплексном лечении больных увеальной меланомой.

Материал и методы

Исследование проведено у 83 больных УМ, проходивших лечение в онкологическом отделении ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины».

Больные УМ были разделены на две группы. Первая группа состояла из 43 больных УМ, фотокоагуляцию и β -терапию которым проводили на фоне тилорона. Вторая группа (контрольная) включала 40 больных, получавших фотокоагуляцию и β -терапию без иммунологической коррекции.

Тилорон назначался в дозе 125 мг 2 раза в неделю, два дня подряд, в течение пяти недель на один курс - 1,25 г препарата. Затем с месячным перерывом больной получал всего 5 курсов.

У пациентов с УМ изучалось содержание естественных киллеров (CD 16) и экспрессия на лимфоцитах CD 95 – FAS-антиген апоптоза [9] до начала лечения и в динамике через 3, 6 и 9 месяцев.

У пациентов с УМ, получавших тилорон на фоне комбинированной терапии, исходное выстояние опухоли было достоверно выше и составило 7,4 (SD 3,1) мм, против 5,8 (SD 2,9) мм у пациентов не получавших тилорон ($p=0,001$). Объем опухоли в группе получавших тилорон был также значимо выше и составил 66,8 (SD 32,7) мм³, а в группе сравнения 52,8 (SD 31,2) мм³, $p=0,05$.

Результаты и их обсуждение

Изучение динамики изменения содержания естественных киллеров (CD 16) в процессе комплексной терапии (фотокоагуляция + β -терапия + тилорон) показало (рис. 1), что через 3 месяца в данной группе пациентов отмечено значимое увеличение содержания естественных киллеров. Их уровень достиг нормы и составил $12,4 \pm 3,8$ % против $8,4 \pm 4,2$ % в группе пациентов, не получавших иммунологическую коррекцию ($p < 0,05$) (норма содержания CD 16 - $16,4 \pm 5,4$ %).

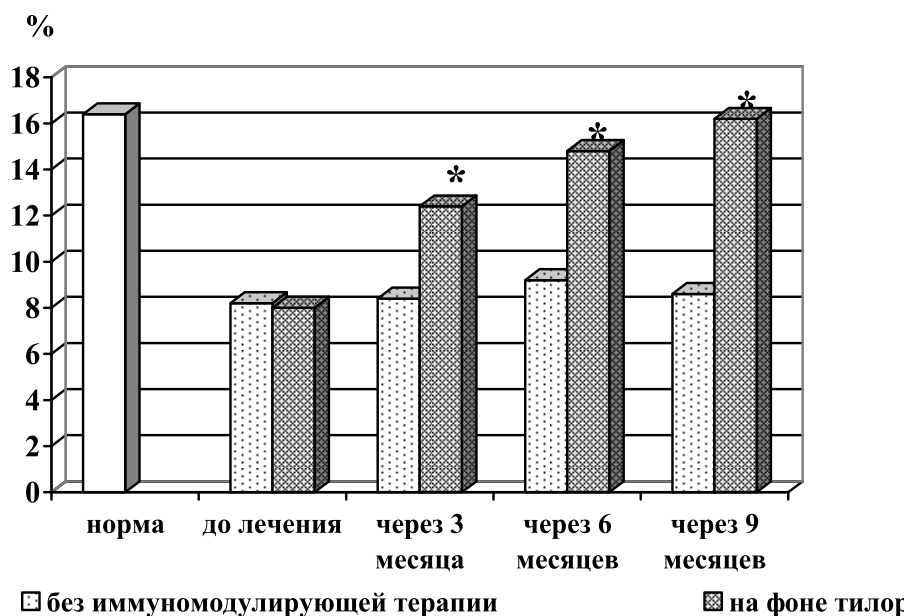


Рис. 1. Динамика уровня естественных киллеров CD 16 ($M \pm SD$) у больных УМ, проходивших комбинированную терапию (фотокоагуляция + β -терапия) без иммуномодулирующей терапии ($n=40$) и на фоне индуктора интерферона тилорона ($n=43$); * - достоверность различий $< 0,05$ по сравнению с группой больных УМ не получавших иммунологическую коррекцию

Через 6 месяцев наблюдения после иммунокорректирующей терапии тилороном содержание естественных киллеров было значимо выше, чем в группе пациентов с УМ не получавших тилорон и составило $14,8 \pm 4,2$ % против $9,2 \pm 3,8$ % ($p < 0,05$).

Аналогичная закономерность была отмечена и через 9 месяцев наблюдения. Содержание естественных киллеров (CD 16) было значимо выше у больных, получавших иммунологическую коррекцию. Данный показатель составил $16,8 \pm 4,4$ % против $8,6 \pm 5,0$ % ($p < 0,05$).

Изучение динамики изменения уровня экспрессии маркера апоптоза (CD 95) в процессе комплексной терапии, включающей тилорон, представлено на рисунке 2.

Как видно из рисунка в группе больных, получавших иммунологическую коррекцию через 3 месяца после лечения отмечено значимое увеличение экспрессии CD 95 по сравнению с исходным уровнем с $190,1 \pm 18,3$ кл/мкл до $229,6 \pm 16,8$ кл/мкл ($p=0,09$), через 9 месяцев отмечено значимое по сравнению с исходным уровнем увеличение экспрессии маркера апоптоза до $493,6 \pm 73,9$ кл/мкл ($p=0,001$).

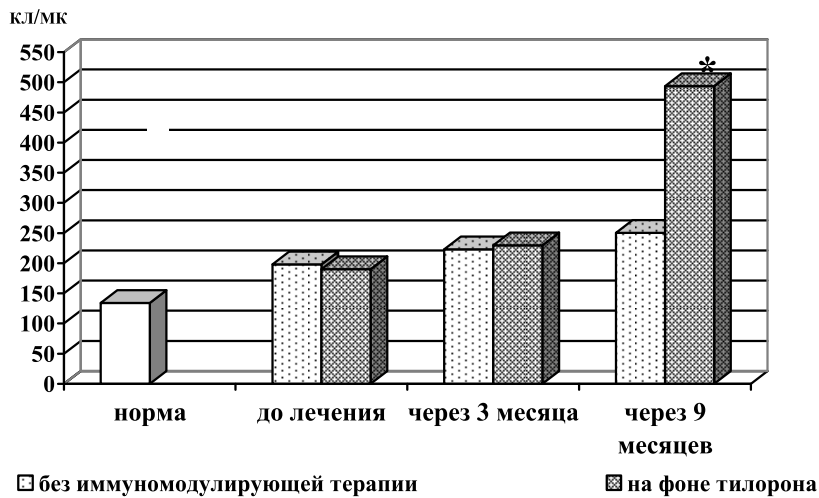


Рис. 2. Уровень экспрессии CD 95 (FAS-антиген апоптоза) в динамике наблюдения у больных УМ, получавших комбинированную терапию (фотокоагуляция + β -терапия) без иммуномодулирующей терапии (n=40) и на фоне индуктора интерферона тилорона (n=43); * - достоверность различий $< 0,05$ по сравнению с исходным уровнем

В группе больных проходивших комбинированное лечение (фотокоагуляция + β -терапия), без иммунологической коррекции до начала лечения уровень экспрессии CD 95 составил $198,0 \pm 18,5$ кЛ/мкл, через 3 месяца он увеличился до $223,2 \pm 15,4$ кЛ/мкл, а через 9 месяцев уровень экспрессии составил $250,1 \pm 72,9$ кЛ/мкл, однако данные показатели значимо не отличались от исходного уровня.

Гибель лимфоцитов через апоптоз – крайне важный механизм иммунной регуляции и средство поддержания иммунного гомеостаза. Апоптоз обеспечивает деление клеток с высокой активностью к антигену, а также гибель лимфоцитов не способных к иммунному ответу после завершения их функции. Большинство активированных клеток погибает через апоптоз. FAS участвуют в ликвидации активированных клеток и следовательно, в подавлении избыточного иммунного ответа. После выполнения лимфоцитами своей функции их избыток уничтожается во избежание накопления активированных клеток.

Эффективность иммунологической коррекции препаратом тилорон по сравнению с пациентами, не получавшими иммунологическую коррекцию, оценивалась относительно показателя сохранения глаза.

Несмотря на то, что в группе больных УМ, получавших тилорон на фоне комбинированной терапии, размер опухоли был достоверно выше, неудачи органосохраняющего лечения составили 7,4% против 23,8% в группе пациентов, не получавших иммунологическую коррекцию (срок наблюдения 3 года).

Таким образом, положительный эффект применения тилорона у больных УМ заключается в том, что удается разрушить опухоли большего размера и получить положительный результат в виде сохранения глаза в процессе комбинированной терапии чаще, чем у пациентов, не получавших тилорон.

Морфологические исследования, проведенные профессором В.В. Витом, показали, что после комбинированной терапии, в фазе «биологических эффектов», отмечается плотный контакт лимфоцитов с меланомными клетками, который ассоциируется с возникновением в последних отека и деструкции мембранных образований (органойдов), особенно митохондрий. Результатом иммунной реакции, проявляющейся наиболее ярко в этой стадии посткоагуляционных изменений, является деструкция меланомных клеток, их некроз, распад, в связи с чем в опухоли формируются многочисленные кисты различного размера и формы. Помимо вакуольной дистрофии меланомных клеток, выявляется жировая дистрофия, зернистая, а также баллоноклеточная [10].

Таким образом, чрезвычайно важным фактором при проведении комбинированной терапии является иммунная реакция организма и его готовность к участию в реализации лечебного эффекта.

Следует особо отметить, что помимо некротических и дистрофических изменений клеток, в стадии «биологических эффектов» наиболее часто и четко проявляются признаки повышения функциональной активности сохранившихся меланомных клеток. Стадия «биологических эффектов» является одной из наиболее важных не только потому, что при ней увеличивается разрушение меланомных клеток с помощью иммунных механизмов, но и в том отношении, что выявляются признаки большей функциональной активности части клеток [10].

Адекватная иммунная реакция на проводимое лечение запускает различные биологические механизмы, как местные, так и общие, обеспечивающие взаимодействие погибающих клеток, их микроокружения и иммунной системы организма, блокируя пролиферацию сохранившихся меланомных клеток. В этом случае после проведения комбинированной терапии не происходит дальнейшего увеличения объема новообразования.

Заклучение

Индуктор интерферона тилорон может быть рекомендован больным УМ больших размеров для расширения показаний органосохраняющего лечения.

Применение комплексной терапии, включающей тилорон, позволяет снизить вероятность энуклеации у больных УМ.

Включение тилорона в комбинированную терапию больных УМ позволяет значительно повысить содержание естественных киллеров и уровень экспрессии CD 95.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Зиангирова Г.Г., Лихванцева В.Г. Опухоли сосудистого тракта глаза. М.: Последнее слово, 2003, 456 с.
2. Глузман Д.Ф., Абраменко И.В. Антигены клеток опухолей как маркеры у онкологических больных // Вопросы онкологии. 1981, №6, с.22-26.
3. Yokoyama T., Yoshi O. Experimental model for metastasis of intraocular melanoma preventive role of natural killers cells // Jpn. Ophthalmol., 1989, v.33(2), p.76-84.
4. Yokoyama T., Yoshi O., Aso H. Role of intraocular cells in natural melanoma metastasis // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1986, v.27, p.516-518.
5. Ma D., Luyten G.P., Luidert T.M. et al. Relationship between natural killers cells susceptibility and metastasis of human uveal melanoma cells in a murine model // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1995, v.36(3), p.435-441.
6. Algarra I., González A., Pérez M. et al. Effect of in vivo activation of natural killer (NK) cells by a tilorone analogue on the survival of mice injected intravenously with different experimental murine tumours // Clin. Exp. Immunol., 1996, v.103(3), p.499-505.
7. Воронцова А.Л., Кудрявец Ю.И. Интерферон как важный элемент оптимизации лечения онкологических больных // Онкология, 2000, т.2, №1-2, с.16-20.
8. Castelli J.C., Hassel B.A., Wood K.A. et al. A study of the interferon antiviral mechanism: apoptosis activation by the 2-5A system // J. Exp. Med., 1997, v.186(6), p.967-972.
9. Глузман Д.Ф., Складенко Л.М., Надгорная В.А. et al. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев: Морион, 2003, с.6-15.
10. Вит В.В. Патологическая анатомия и лечебный патоморфоз пигментных новообразований увеального тракта глаза человека: Автореф. дис... д-ра мед. наук. Одесса, 1987, 30 с.

Veličko L.N.

UVEAL MELANOMASI OLAN XƏSTƏLƏRDƏ KOMBİNƏOLUNMUŞ ORQANQORUYUCU MÜALİCƏ PROSESİNDƏ TİLORON İNTERFERON İNDUKTORU İLƏ QEYRİ-SPEŞİFİK İMMUN REAKSİYALARIN İMMUNOLOJİ KORREKSİYASI

“Ukrayna TEA V.P.Filatov ad. Göz xəstəlikləri və toxuma terapiyası institutu” Dövlət Müəssisəsi, Odessa şəh.

Açar sözlər: uveal melanoma, immunoloji korreksiya, interferon induktoru, tiloron

XÜLASƏ

Məqsəd – uveal melanoması (UM) olan xəstələrin kompleks müalicəsində interferon induktorunun (tiloronun) immunoloji modullaşdırıcı və reseptor modifikasiyaedici təsirinə öyrənilməsi.

Material və metodlar

Tədqiqatlar “Ukrayna TEA V.P.Filatov ad. Göz xəstəlikləri və toxuma terapiyası institutu” onkoloji şöbəsində müalicə alan UM ilə 83 xəstə üzərində aparılmışdır.

UM ilə xəstələr iki qrupa bölünmüşdür: I qrup – tiloron fonunda fotokoaqulyasiya və β -terapiya aparılan UM ilə 43 pasiyent; II kontrol qrup – immunoloji korreksiyasız fotokoaqulyasiya və β -terapiya aparılan UM ilə 40 pasiyent.

UM ilə pasiyentlərdə CD 16 təbii killerlər miqdarı və FAS-apoptoz antigeninin CD 95 limfositlərdə ekspressiyası müalicədən əvvəl və 3, 6, 9 aydan sonra dinamikada öyrənilmişdir.

Nəticə

Tiloron fonunda kombinə edilmiş müalicə alan UM ilə xəstələrdə, kontrol qrupla müqayisədə, təbii killerlər (CD 16) miqdarının əhəmiyyətli dərəcədə artması qeyd edilmişdir. İmmunoloji korreksiyasız kombinə edilmiş terapiya alan pasiyentlərdə, ilkin səviyyədə fərqli olaraq, təbii killerlər miqdarının əhəmiyyətli artımı müşahidə edilməmişdir.

İmmunoloji korreksiya alan UM ilə pasiyentlərin limfositlərində CD 95 (apoptoz markerinin) ekspressiya səviyyəsinin öyrənilməsi, ilkin göstəricidən fərqli olaraq, onun əhəmiyyətli dərəcədə artımını göstərmişdir. İmmunoloji korreksiyasız kombinə edilmiş terapiya prosesində UM ilə pasiyentlərdə CD 95 ekspressiya səviyyəsinin, ilkin göstəricidən fərqli olaraq, əhəmiyyətli artımı qeyd olunmamışdır.

Yekun

Tiloron interferon induktoru böyük həcmli UM ilə xəstələrdə orqanqoruyucu müalicənin göstərişlərinin genişləndirilməsi üçün məsləhət görülməlidir. Tərkibində tiloron olan kompleks terapiyanın tətbiqi UM ilə xəstələrdə enukleasiya ehtimalını azaltmağa imkan verir.

UM ilə xəstələrin kombinə edilmiş terapiyasına tiloronun daxil edilməsi təbii killerlər miqdarını və CD 95 ekspressiya səviyyəsini artırmağa şərait yaradır.

Velichko L.N.

IMMUNOCORRECTION EFFECT OF THE DRUG TILORON IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA DURING COMBINED ORGAN-PRESERVING TREATMENT

SI “The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMS of Ukraine”, Odessa, Ukraine

Key words: uveal melanoma, immunological correction, interferon inducer, tiloron

SUMMARY

Aim - to study the possibility of using tiloron in the complex treatment of patients with uveal melanoma.

Materials and methods

The investigation was carried out in 83 patients with uveal melanoma. The patients were divided into two groups: I group - 43 patients with uveal melanoma who were made photocoagulation and β -therapy against the background of interferon inducer - tiloron; II group - 40 patients without using immunologic correction. There was also made the study of the level of expression of the molecular markers of lymphocyte activation CD95 and CD16 (natural killer cells) by the histoimmunochemical method before the beginning of treatment, in 3 and 9 months after treatment.

Results

The patients with uveal melanoma whose combined therapy was given against the background of tiloron had the tumour prominence reliably higher than the patients that did not take tiloron and made 7,4 (SD 3,1) mm versus 5,8 (SD 2,9) mm, $p=0,001$.

The tumour volume was also higher in patients that took tiloron and made 66,8 (SD 32,7) mm³ and in patients who did not take tiloron it was 52,8 (SD 31,2) mm³, $p=0,05$. Despite the fact that the tumour size in the group of patients taking tiloron was higher, failures of the organ-reserving treatment was 7,4 % versus 23,8 % in the group

of patients who did not have immunocorrection therapy. There was noted reliable increase of the level of CD 95 expression in 3 months after intake of tiloron. In 9 months the patients who took tiloron were observed to have reliable increase in comparison with the initial level of expression of CD 95. In 3 months the level of molecular markers of lymphocyte activation did not increase reliably in patients with uveal melanoma whose combined therapy did not include tiloron. In 9 months in comparison with the initial level there was noted reliable increase of the expression of relative content of CD 95.

When used as an adjuvant to the combined treatment for uveal melanoma, tilorone offers benefit beyond the combined treatment alone with respect to normalization of NK cells (CD16).

Conclusion

It is established that inclusion of tiloron in the complex therapy of patients with uveal melanoma allows to destruct tumours of the large size as well as contribute to reduction in the enucleation rate. The positive effect of using tiloron in patients with uveal melanoma is associated with authentic increase of the expression level of CD 95 molecules and normalization NC cells (CD 16) promoting a positive result of the organ-preserving treatment. Tilorone can be integrated into a complex modality approach for uveal melanoma treatment as an immune correction agent with the anti-tumor resistance-enhancing capacity.

Для корреспонденции:

Величко Людмила Николаевна – канд. мед. наук, заведующая лаборатории иммунологии ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»

Адрес: ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины», Французский бульвар, 49/51, г. Одеса, 65061, Украина

Тел.: (+38 048) 729-84-58, (+38) 098-441-79-28

E-mail: aleximmun@mail.ru