С.М. Костенко[1], Е.И. Пелешенко[2]

АДЪЮВАНТНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ РОНКОЛЕЙКИНОМ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ С ВЫСОКИМ РИСКОМ

[1]*ГУЗ Центр по порьбе и профилактике СПИД и ИЗ, г. Воронеж;*
[2] *ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Минздрава России*

Резюме. Представлен новый подход к увеличению безрецидивной и общей выживаемости больных меланомой кожи с неблагоприятным прогнозом с применением препарата Ронколейкин. В результате применения данного подхода безрецидивная и общая выживаемость больных этой группы возросла в среднем на 80%.

Ключевые слова: меланома кожи, иммунная система, Ронколейкин, период выживания.

Актуальность. В последние десятилетия в различных странах мира отмечен значительный рост заболеваемости меланомой кожи с тенденцией кратного увеличения в течение каждого десятилетнего периода [1, 7, 11, 14]. Меланома кожи является одной из агрессивных форм злокачественных опухолей с выраженной потенцией к диссеминации процесса [3, 5, 6]. Хотя, одним из ведущих методов лечения меланомы кожи на стадиях локорегионального распространения до сих пор является хирургический, многие авторы подчеркивают условность его радикальности даже при ранних формах. Пятилетняя выживаемость у пациентов с первичной опухолью толщиной больше 3 мм составляет от 18 до 24 %., с метастазами в регионарные лимфоузлы в среднем до 30% [2, 16]. Для профилактики рецидивов и отдаленных метастазов у больных с меланомой кожи неблагоприятного прогноза на сегодняшний день хорошо известны химиотерапевтические препараты, лучевая терапия, противоопухолевые вакцины, иммунопрепараты [4, 8, 10, 12, 15, 17, 18]. Анализ этих исследований показал, что применение этих средств не привело к значительному увеличению безрецидивной и общей выживаемости. В литературе нет данных по эффективности какой либо лекарственной терапии у больных меланомой кожи после лечебных регионарных лимфодиссекций, иссечения отдаленных метастазов, хотя риск прогрессирования процесса у данной группы пациентов особенно высок. Медиана выживаемости больных после удаления метастазов составляет от одиннадцати месяцев до года.

Таким образом, поиск новых препаратов и схем их применения с целью увеличения безрецидивной и общей выживаемости этой группы пациентов является до сих пор актуальной.

Одним из основных иммунологических препаратов, применяемых при меланоме кожи, является интерлейкин-2. Наиболее часто он применяется в составе схем биохимиотерапии при генерализованных формах этого заболевания. В последнее время появился интерес к препаратам интерлейкина-2 в качестве профилактического средства у больных с меланомой кожи высокого риска [9, 13, 19].

Целью настоящего исследования явилось изучение отечественного рекомбинатного дрожжевого интерлейкина-2 «Ронколейкина» производства «Биотех» в качестве профилактического средства у больных с меланомой кожи после радикального хирургического лечения.

Материал и методы исследования. Эффективность ронколейкина в адъювантном режиме исследовалась у 26 пациентов с меланомой кожи с неблагоприятным прогнозом. Диагноз и стадия процесса выставлялся на основании послеоперационного гистологического исследования по классификации по общепринятой в России классификации. Средний возраст больных составил 58,5±7,2 лет.

Распределение пациентов согласно локализации первичной опухоли представлено в табл. 1.

Таблица 1.

Распределение больных по стадиям, локализации меланомы кожи

Локализация	I (T1-2N0M0)		II (T3N0M0)		III (T4N0M0 или ТлюбаяN1-2M0)		IV (ТлюбаяNлюбыеM1)	
	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.
Голова, шея	–	–	1		1	–	–	–
Туловище	–	–	1	1	3	1	–	–
Верхние конечности	–	2	–	–	–	1	–	–
Нижние конечности	–	1	2	5		5	–	–
Метастазы в лимфоузлы без выявленного первичного очага	–	–	–	–	–	–	–	1
Другие (меланома тонкого кишечника	–	–	–	–	–	1	–	–
ВСЕГО	–	3	4	6	4	8	–	1

Всем больным ронколейкин вводился подкожно по 500 тыс. ЕД 1 раз в три дня. На курс – 5 инъекций. Курсов проводилось 1-2 в зависимости от нормализации показателей иммунного статуса.

Причем 7 пациентам иммунотерапия ронколейкином проводилась после иссечения подкожных метастазов, 8 - после лимфодиссекций по поводу метастазов в лимфоузлы, 11- адъювантно после радикального иссечения первичной опухоли.

Больными на протяжении всего срока наблюдения (в среднем 22 мес.) проводилось динамической наблюдение (клинический осмотр врача-онколога, УЗ и рентгенологические исследования.

Гематологическое исследование включало определение количества лейкоцитов, лейкоцитарной формулы с подсчетом процентного и абсолютного содержания лимфоцитов

Кровь на иммунологические исследования забиралась утром, натощак.

Оценка иммунного статуса до и после лечения включала определение процентного и абсолютного содержания СД3+, СД4+,СД8+,СД16+, СД20+, СД25+, СД95+, HLA-DR антигенположительных лимфоцитов с помощь моноклональных антител меченных FITC в непрямой реакции иммунофлюоресценции. Использовались моноклональные антитела фирмы «Сорбент» г.Москва. Функциональную активность В-клеток оценивали по содержанию в сыворотке крови иммуноглобулинов А, М, G определяемых с помощью метода радиальной иммунодиффузии в агаровом геле по Manchini. Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов проводилась по стандартной методике с использованием в качестве фагоцитируемого материала частиц латекса. Исследование бактерицидности нейтрофилов проводили по стандартной методике в НСТ-тесте. Для оценки индуцированного НСТ-теста в качестве индуктора использовали форболмиристатаацетат. Концентрацию интерферона-альфа, интерлейкина-1 и 2 в крови обследуемых определяли иммуноферментным методом. Для работы использовались наборы реагентов фирмы «Протеиновый контур» г.С.-Петербург.

Полученные результаты и их обсуждение. При сравнении иммунологических показателей группы здоровых доноров и пациентов с меланомой кожи перед началом иммунотерапии ронколейкином были выявлено снижение количества лейкоцитов, лимфоцитов, СД3+-, СД4+-, СД8+ -,СД16+- антигенположительных клеток как в процентном, так и в абсолютном содержании.

СД20+-, СД95+-, HLA-DR+ - лимфоциты не менялись. Не обнаружено значительного различия между фагоцитарной активности, бактерицидной активности нейтрофилов, уровнем иммуноглобулинов в этих двух группах.

После 1-2 курсов иммунотерапии ронколейкином выявлены достоверное увеличение СД3+-, СД4+-, СД8+- лимфоцитов по сравнению с количеством тех же клеток до лечения почти до уровня здоровых доноров.

Значительной динамики СД16+, СД20+-, СД95+-, HLA-DR+ - лимфоцитов, фагоцитарной активности, бактерицидной активности нейтрофилов, уровнем иммуноглобулинов после иммунотерапии на отмечено (табл. 2, рис.1).

Таблица 2.

Результаты иммунологического обследования во время иммунотерапии ронколейкином

Показатель	Норма (практически здоровые лица)	абсолютное количество ($10^9/_л$)		Достоверность различий по t-критерию Стьюдента
		до лечения	после лечения	
Лейкоциты	6,15±0,47	5,26±0,42	5,26±0,41	0,365801
Лимфоциты	2,45±0,18	1,80±0,19	1,90±0,23	0,427491
СД3+	1,55±0,13	0,99± 0,18	1,14±0,15	0,376005
СД4+	0,88±0,12	0,53±0,16	0,76±0,11	0,138598
СД8+	0,68±0,08	0,38±0,06	0,62±0,09	0,050342
СД20+	0,43±0,08	0,27±0,04	0,26±0,03	0,350543
СД16	0,37±0,098	0,24±0,04	0,21±0,034	0,304584
СД25	0,20±0,09	0,21±0,03	0,18±0,025	0,244491
СД95	0,19±0,055	0,23±0,12	0,11±0,03	0,196736
HLA-DR	0,18±0,022	0,25±0,07	0,29±0,09	0,341437

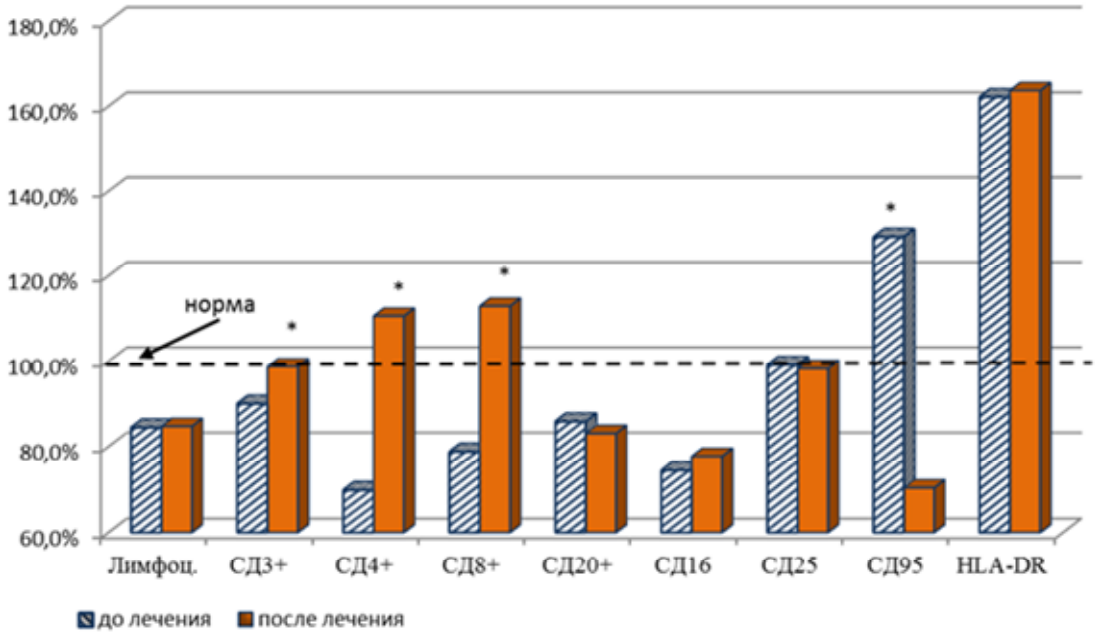

Рис. 1. Динамика показателей у пациентов с меланомой кожи относительно уровня нормы в процентах.

*Знаком * обозначены статистические значимые различия при $p<0,05$*

В интерлейкиновом статусе пациентов произошли разноплановые изменения. Так произошло снижение количества интерферона-альфа и интерлейкина-2 и повышение уровня интерлейкина-1 лечения ронколейкином (табл. 3, рис. 2).

Таблица 3.

Динамика ИНФ-альфа, ИЛ-1 и 2 у пациентов, получавших иммунотерапию ронколейкином.

Показатель	До лечения	После лечения
ИНФ-альфа	10,90±1,9	0,714±0,072
Интерлейкин-1	93,75±15,4	154,16±21,57
Интерлейкин-2	420,37±39,6	286,43±36,59

В результате проведенной исследования по эффективности адъювантной иммунотерапии ронколейкином лишь у 3 пациентов были выявлены отдаленные метастазы и рецидивы опухоли в среднем через 11 мес. За всеми пациентами ведется динамическое наблюдение и иммуномониторинг.

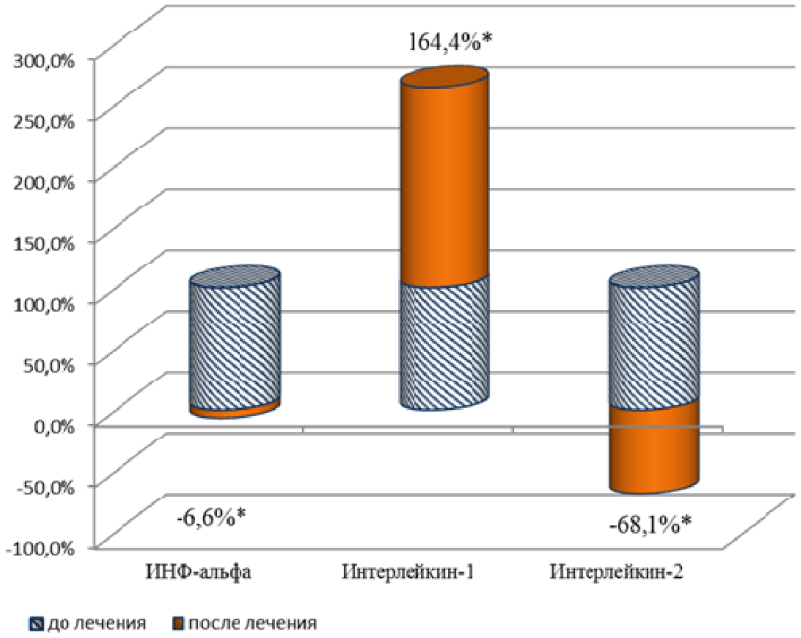

Рис. 2 Динамика показателей интерлейкинового статуса пациентов с меланомой кожи в процентах относительно уровня до начала лечения (принят за 100%).

*Знаком * обозначены статистические значимые различия при $p<0,05$*

Таким образом, у больных с меланомой кожи с высоким риском возникновения метастазов и рецидивов адъювантная иммунотерапия ронколейкином в предложенной схеме показала высокую иммуностимулирующую активность.

Литература.

1. Артюхов, И. П. Заболеваемость меланомой кожи взрослого населения Красноярского края / И. П. Артюхов [и др.]// Сибирское медицинское обозрение , 2013, N 6. - С.37-42

2. Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю., Тимофеев И.В. Успехи и неудачи применения цитокинов в лекарственной терапии некоторых солидных опухолей // Практическая онкология, Т.4, №3, 2003. – С. 140-147

3. Закурдяева И.Г., Цыб А.Ф. Метастатическая меланома кожи (обзор литературы Сибирский онкологический журнал 2010 №6 (42) С.58-62

4. Значимость однонуклеотидных полиморфизмов -2578CA и 936CT гена VEGF для оценки эффективности противоопухолевой иммунотерапии метастатической меланомы кожи / Ю. А. Хоченкова [и др.]. // Медицинская иммунология , 2013. – Т.15, N 6. - С.563-570.

5. Меланома кожи головы и шеи: современное состояние проблемы / А. Е. Михнин, С. А. Тарков, О. С. Фролова // Вопросы онкологии. - 2012. - Т. 58, № 1. - С. 19-25

6. Меланома кожи: клинико-морфологический анализ состояния диагностики / Г. И. Гафтон [и др.] // Вопросы онкологии. - 2012. - Т. 58, № 2. - С. 286-287

7. Особенности течения меланом кожи головы и шеи и факторы, влияющие на выживаемость / С. А. Тарков [и др.] // Вопросы онкологии. - 2013. - Т. 59, № 1. - С. 114-117 .

8. Применение ронколейкина (рекомбинантного интерлейкина-2) в онкологии: пособие для врачей. Издание 3-е, обновлённое и дополненное / ФГУ Рос. науч. Центр радиологии и хирург. технологий Росздрава; [Молчанов О.Е.] — Санкт-Петербург, 2010. – 44 с.

9. Фенотип лимфоцитов у больных меланомой кожи после иммунотерапии активированными лимфоцитами / Е. В. Абакушина [и др.] // Медицинская иммунология. - 2014. - Том 16, N 6. - С. 567-576

10. Ayala-Cortés AS, Garza-Rodríguez V, Ocampo-Candiani J. [Current treatments for advanced stage melanoma]. Gac Med Mex. 2014 Dec;150 Suppl 2:145-55. Spanish. PubMed PMID: 25643774

11. Chiarion-Sileni V, Guida M, Romanini A, Bernengo MG, Ascierto P, Queirolo P, Mandalà M, Maio M, Ferraresi V, Stanganelli I, Testori A, Ridolfi R. Diagnostic and therapeutic approaches in Italian hospitals: adjuvant and metastatic therapy in melanoma. Dermatology. 2013; PMID: 23736267.

12. Chu MB, Fesler MJ, Armbrecht ES, Fosko SW, Hsueh E, Richart JM. High-Dose Interleukin-2 (HD IL-2) Therapy Should Be Considered for Treatment of Patients with Melanoma Brain Metastases. Chemother Res Pract. 2013, PMID: 23762555

13. Kaufman HL, Wong MK, Daniels GA, McDermott DF, Aung S, Lowder JN, Morse MA. The Use of Registries to Improve Cancer Treatment: A National Database for Patients Treated with Interleukin-2 (IL-2). J Pers Med. 2014 Mar 7; PMID: 25562142

14. Maverakis E, Cornelius LA, Bowen GM, Phan T, Patel FB, Fitzmaurice S, He Y, Burrall B, Duong C, Kloxin AM, Sultani H, Wilken R, Martinez SR, Patel F. Metastatic Melanoma - A Review of Current and Future Treatment Options. Acta Derm Venereol. 2014 Dec 18. PMID: 25520039.

15. Moskalenko M, Pan M, Fu Y, de Moll E, Hashimoto D, Mortha A, Leboeuf M, Jayaraman P, Bernardo SG, Sikora AG, Wolchok JD, Bhardwaj N, Merad M, Saenger YM. Requirement for innate immunity and NK1.1-CD90+ lymphocytes to treat established melanoma with chemo-immunotherapy. Cancer Immunol Res. 2015 Jan 19. pii: canimm.0120.2014. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25600438

16. Rotte A, Bhandaru M, Zhou Y, McElwee KJ. Immunotherapy of melanoma: Present options and future promises. Cancer Metastasis Rev. 2015 Jan 15. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25589384

17. Suckow MA. Cancer vaccines: harnessing the potential of anti-tumor immunity. Vet J. 2013 Oct;198(1), Epub 2013 Jul 10., PMID: 23850019

18. Tan C, Reddy V, Dannull J, Ding E, Nair SK, Tyler DS, Pruitt SK, Lee WT. Impact of anti-CD25 monoclonal antibody on dendritic cell-tumor fusion vaccine efficacy in a murine melanoma model. J Transl Med. 2013 Jun 17; PMID: 23768240

19. Zheng Y, Stephan MT, Gai SA, Abraham W, Shearer A, Irvine DJ. In vivo targeting of adoptively transferred T-cells with antibody- and cytokine-conjugated liposomes. J Control Release. 2013 Dec 10; PMID: 23770010.

Abstract.

C.M. Kostenko[1], E.I. Peleshenko[2]

ADJUVANT IMMUNOTHERAPY RONCOLEUKIN MELANOMA PATIENTS WITH A HIGH RISK SKIN

[1]GUZ porbe Center for AIDS prevention and ID, Voronezh;

[2]Voronezh N.N. Burdenko State Medical Academy

The article deals with the new approach to the increase of the relapseless and general survival of patients with cutaneous melanoma with the unfavourable prognosis based on the application of the preparation Roncoleukin. The application of the approach in question made it possible to increase the average relapseless and general survival period to 80%.

Key words: cutaneous melanoma, immune system, Roncoleukin, survival period

References:

1. Artyukhov, I. P. Incidence of a melanoma of skin of adult population of Krasnoyarsk Krai / Nominative Artyukhov [etc.]//Siberian medical review, 2013, N 6. - Page 37-42

2. Demidov L.V., Harkevich G. Yu., Timofeev I.V. Progress and failures of application of tsitokin in medicinal therapy of some solid tumors//Practical oncology, T.4, No. 3, 2003. – Page 140-147

3. Zakurdyaeva I.G., Tsyb A.F. Metastaticheskaya skin melanoma (review of literature Siberian oncological magazine 2010 No. 6 (42) of Page 58-62

4. The importance of one-nucleotide polymorphisms - 2578CA and 936CT of VEGF gene for an assessment of efficiency of an antineoplastic immunotherapy of a metastatic melanoma of skin / Yu. A. Hochenkova [etc.].//Medical immunology, 2013. – T.15, N 6. - Page 563-570.

5. Melanoma of head skin and neck: current state of a problem / A. E. Mikhnin, S. A. Tarkov, O. S. Frolova//oncology Questions. - 2012. - T. 58, No. 1. - Page 19-25

6. Skin melanoma: kliniko-morphological analysis of a condition of diagnostics / G. I. Gafton [etc.]//oncology Questions. - 2012. - T. 58, No. 2. - Page 286-287

7. Features of a course of melanomas of head skin and a neck and factors influencing survival of patients / S. A. Tarkov [etc.]//oncology Questions. - 2013. - T. 59, No. 1. - Page 114-117.

8. Application of a ronkoleykin (recombinant interleykina-2) in oncology: a grant for doctors. The edition 3rd updated and added / Ros Federal State Institution. науч. Center of radiology and surgeon. technologies Roszdrava; [Molchanov O. E.] — St. Petersburg, 2010. – 44 pages.

9. A phenotype of lymphocytes at patients with a skin melanoma after an immunotherapy the activated lymphocytes / E. V. Abakushina [etc.]//Medical immunology. - 2014. - Volume 16, N 6. - Page 567-576

10. Ayala-Cortés AS, Garza-Rodríguez V, Ocampo-Candiani J. [Current treatments for advanced stage melanoma]. Gac Med Mex. 2014 Dec;150 Suppl 2:145-55. Spanish. PubMed PMID: 25643774

11. Chiarion-Sileni V, Guida M, Romanini A, Bernengo MG, Ascierto P, Queirolo P, Mandalà M, Maio M, Ferraresi V, Stanganelli I, Testori A, Ridolfi R. Diagnostic and therapeutic approaches in Italian hospitals: adjuvant and metastatic therapy in melanoma. Dermatology. 2013; PMID: 23736267.

12. Chu MB, Fesler MJ, Armbrecht ES, Fosko SW, Hsueh E, Richart JM. High-Dose Interleukin-2 (HD IL-2) Therapy Should Be Considered for Treatment of Patients with Melanoma Brain Metastases. Chemother Res Pract. 2013, PMID: 23762555

13. Kaufman HL, Wong MK, Daniels GA, McDermott DF, Aung S, Lowder JN, Morse MA. The Use of Registries to Improve Cancer Treatment: A National Database for Patients Treated with Interleukin-2 (IL-2). J Pers Med. 2014 Mar 7; PMID: 25562142

14. Maverakis E, Cornelius LA, Bowen GM, Phan T, Patel FB, Fitzmaurice S, He Y, Burrall B, Duong C, Kloxin AM, Sultani H, Wilken R, Martinez SR, Patel F. Metastatic Melanoma - A Review of Current and Future Treatment Options. Acta Derm Venereol. 2014 Dec 18. PMID: 25520039.

15. Moskalenko M, Pan M, Fu Y, de Moll E, Hashimoto D, Mortha A, Leboeuf M, Jayaraman P, Bernardo SG, Sikora AG, Wolchok JD, Bhardwaj N, Merad M, Saenger YM. Requirement for innate immunity and NK1.1-CD90+ lymphocytes to treat established melanoma with chemo-immunotherapy. Cancer Immunol Res. 2015 Jan 19. pii: canimm.0120.2014. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25600438

16. Rotte A, Bhandaru M, Zhou Y, McElwee KJ. Immunotherapy of melanoma: Present options and future promises. Cancer Metastasis Rev. 2015 Jan 15. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25589384

17. Suckow MA. Cancer vaccines: harnessing the potential of anti-tumor immunity. Vet J. 2013 Oct;198(1), Epub 2013 Jul 10., PMID: 23850019

18. Tan C, Reddy V, Dannull J, Ding E, Nair SK, Tyler DS, Pruitt SK, Lee WT. Impact of anti-CD25 monoclonal antibody on dendritic cell-tumor fusion vaccine efficacy in a murine melanoma model. J Transl Med. 2013 Jun 17; PMID: 23768240

19. Zheng Y, Stephan MT, Gai SA, Abraham W, Shearer A, Irvine DJ. In vivo targeting of adoptively transferred T-cells with antibody- and cytokine-conjugated liposomes. J Control Release. 2013 Dec 10; PMID: 23770010.

Сведения об авторах: Костенко Станислав Михайлович – кандидат медицинских наук, заведующий иммунологической лабораторией Государственного учреждения здравоохранения Центр по порьбе и профилактике СПИД и инфекционных заболеваний, г. Воронеж; Пелешенко Елена Ивановна– кандидат технических наук, заведующая отделом защиты объетов интеллектуальной собственности ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.