

ONCOLOGICAL DISEASES

Malyškina A.I., Sotnikova N.J., Posiseeva L.V., Anciferova S.J.

Možnosti použitia polyoxidonia pri liečbe chorých s myómom maternice.

Štátna univerzita „Ivanavský vedecko výskumný inštitút materinstva a detstva V.N. Gorodkova – MZ RF, mesta Ivanovo.

Myóm maternice – predstavuje široko rozšírené gynekologické ochorenie; v posledných rokoch sa s ním stretávame u veľa mladých žien (7). Nehľadiac na značný progres vo výskume patogenézy myómu maternice, toto ochorenie stále predstavuje najčastejšiu príčinu operácií v gynekológii. Radikálny zásah s odstránením maternice zapríčiní stratu reprodukčnej funkčnosti a menštruačnej funkčnosti, zvlášť negatívne vplyva na celkový zdravotný stav ženy. (1). Vo výskumoch domácich a zahraničných výskumníkov je detailne preukázaná úloha imunitného systému a to napríklad pri faktorov rastu v patogenéze myómu maternice (7,8,9), a sú vytvorené preparáty, ktoré môžu poslúžiť ako alternatíva k operačnej liečbe tohto ochorenia (6,10). Avšak preparáty majúce imunomodulačnú aktivitu doposiaľ nenašli široké uplatnenie v konzervatívnej liečbe mladých žien s myómom maternice.

Cieľ výskumu: zdôvodnenie možnosti použitia preparátu s imunomodulačnou aktivitou „Polyoxidonia“ v konzervatívnej liečbe chorých s medzisvalovým myómom maternice malých rozmerov.

Materiál a metódy: Sledovali sme 20 žien v reprodukčnom veku s myómom maternice malých rozmerov (základná skupina) a 31 fertilyných zdravých žien (kontrolná skupina).

Spolu so všeobecnou – klinickými a špeciálnymi gynekologickými metódami boli použité aj imunologické metódy vyšetrenia:

- * separácia imunokompetentných buniek (lymfocyty, neutrofilny) z periférnej krvi metódou rýchlej centrifugácie v gradiente ficoll – verografin;
- * hodnotenie expresie aktivovaných a adhézných molekúl na povrchu lymfocytov s využitím monoklonálnych protilátok anti-CD3, anti-CD4 značených fikoerytrínom a anti-CD8, anti-CD22, anti-CD25, anti-CD45, anti-CD71, anti-CD38, anti-HLA-DR, anti-CD16 značených FITC („Klonospektr“, Moskva), metódou prietokovej cytometrie na prístroji „FACScam“;
- * určenie základných tried imunoglobulínou (IgG, IgA, IgM) metódou radiálnej imunodifúzie podľa Mancini;

- * určenie cirkulujúcich imunitných komplexov (CIK) nefelometrickou metódou;
- * určenie spontánnej (NST) a stimulovanej zymozanom (NSTz) baktericídnej aktivity neutrofilov periférnej krvi v reakcii obnovenia nitrotetrazolovej modrej (NST-test) s výpočtom pomerného množstva NST-pozitívnych buniek;
- * určenie indexu neutrofilnej aktivity (INA) podľa vzťahu:

$$\text{INA} = \text{NSTz} - \text{NST} / \text{NST} \times 100\%;$$

- * mikroimunoenzymatické určenie v steroch z cervikálneho kanálu protilátok chlamidií, ureaplazmov, trichomonád; v periférnej krvi – špecifických protilátok (IgM, IgG) proti chlamidií, vírusu prostého herpesu typu II, cytomegalovírusu, Candida albicans.

Výsledky a hodnotenie : Priemerný vek žien s myómom maternice malých rozmerov sa nelíšil od veku žien v kontrolnej skupine a predstavoval $31,1 \pm 0,9$ roku. Každú tretiu pacientku s myómom maternice trápil chronicko recidivujúci nazo-labiálny herpes ($p < 0,01$), každú piatu – genitálny herpes ($p < 0,05$).

Analýza zvláštnosti doprevádzajúcich genitálne infekcie preukázala obzvlášť vysoký výskyt pozitívnych výsledkov vyšetrení na ureaplazmozu, kandidozu, trichomonady, chlamidiozu a to v skupine žien s myómom maternice malých rozmerov , tak i u žien v kontrolnej skupine. V tom čase u pacientok s myómom maternice podstatne častejšie ako v kontrolnej skupine sme stanovili protilátky (IgM, IgG) proti vírusu prostého herpesu typu II i cytomegalovírusa (90.0%, $p < 0.001$; a 40.0%, $p < 0.05$) čo vysvetľuje vysoký výskyt genitálneho a nazo-labiálneho herpesu u žien danej skupiny. Získane nami údaje potvrdzujú úlohu genitálnej infekcie obzvlášť vírusovej ako trigerného faktora rozvoja myómu maternice (8).

U 70,0% chorých pri ultrazvukovom vyšetrení s použitím abdominálneho a vaginálneho snímača boli objavené ojedinelé medzisvalové myómatózne uzliny, u 30,0% - mnohopočetné. Všeobecné rozmery maternice v dobe vyšetrenia odpovedali ako pri 5-6 týždennej ťarchavosti u 65,0% chorých ; 7-9 týždennému – u 35,0%. Viac než polovica žien neudávala ťažkosti charakteristických ako pri chorobe s myómom maternice (60,0%), čo môžeme vysvetľovať malými rozmermi nádoru a veľkej dobe ochorenia. 20,0% chorých konštatovalo bolestivé menštruácie ; 20,0% - silné a dlhotrvajúce menštruácie. Zníženie hodnôt hemoglobínu u chorých sa nezaznamenalo.

Sledovanie imunologických hodnôt periférnej krvi sa vykonávalo dvakrát – pri prijatí pacientky a po dvoch týždňov od skončenia liečby. Sledovanie východzieho populačného zloženia lymfoidných buniek periférnej krvi u žien s myómom maternice malých rozmerov nepreukázalo významné rozdiely od ukazovateľov v kontrolnej skupine. Avšak treba poukázať na prítomnosť zvýšenej hladiny prirodzených killerných buniek s fenotypom CD16+ (tab.1).

Dôležitú informáciu o funkčnej aktivite buniek predstavujú údaje po expresii aktivačných markerov, ktoré dovoľujú usudzovať o etape a charaktere imúnneho procesu. Nami sledované základné parametre charakterizujú rôzne štádia aktivácie bunky. U žien s myómom maternice malých rozmerov sa vyznačovalo zosilnením ranných a pozdnych etáp aktivácie lymfocytov o čom svedčilo značné zvýšenie pomerového množstva v periférnej krvi buniek, expresiucich na svojom povrchu markery aktivácie – CD25+, CD71+ a HLA-DR+ molekúl (tab.1). Vysoký obsah aktivovaných lymfocytov a prirodzených killerov v periférnej krvi u žien s myómom

maternice , podľa všetkého, môžeme hodnotiť ako aktiváciu systémovej imunitnej odpovede bunkového typu na stimuláciu infekčným agensom.

Uskutočnili sme výskum expresie aktivovaných markerov na povrchu rôznych populácií T-lymfocytov. U žien s malými myómami zosilnená expresia aktivovaných molekúl sa zaznamenala predovšetkým v populácií T-lymfocytov (tab.1).

Zvláštnu pozornosť si zaslúži fakt, že sme stanovili značne zvýšenú hladinu CD38 – kladných T-lymfocytov v periférnej krvi u žien s myómom maternice malých rozmerov ($p < 0.001$, tab.1). Je známe , že CD38 molekula sa expresuje na povrchu nezrelých lymfocytov alebo na povrchu aktivovaných buniek (2). Vezmúc ohľad na zvýšenú expresiu jedného z markerov neskorej aktivácie – HLA-DR molekúl u žien sledovanej skupiny, môžeme predpokladať, že vysoký obsah CD38+ lymfocytov tiež vzniká na ukor populácií lymfocytov nachádzajúcich sa v pozdných etapách aktivácie.

Skôr už bolo dokázané, že ak obsah v periférnej krvi T-lymfocytov s fenotypom CD38+ rovnajúci sa alebo prevyšujúci 23% je prognostickým znakom rýchleho rastu myómu maternice (3). Je známe , že potenciálnejšiu schopnosť k rastu majú jednotlivé , neveľké, prvýkrát objavené myómatózne uzliny (8). Získané nami údaje dobre korelujú s týmto stavom – najvyššie individuálne hladiny CD38 – pozitívnych buniek v periférnej krvi sú zaznamenané u žien s jednotlivými myómatóznymi uzlinami pozorovaných len pri gynekologickej prehliadke. Ak vezmeme v úvahu mladý vek našich pacientok, nerealizovanú reprodukčnú funkciu, malé rozmery nádoru a v mnohých prípadoch neprítomnosť klinických prejavov ochorenia, treba vnímať daný test krajne informatívny v pláne diagnostiky i prognóze priebehu myómu maternice u danej skupiny chorých.

Sledovanie funkčného stavu B - a T- reťazcov imunity na systémovej hladine ukázal, že u pacientok s myómom maternice malých rozmerov bol zvýšený obsah v sére CIK, bola znížená odpoveď neutrofilov na stimuláciu zymozanom a rezerv vo funkčnej aktivite (tab.2).

Zvýšenie sérovej hladiny CIK dovoľuje hovoriť o aktivácii reakcií humorálneho reťazca imunity u žien s myómom maternice na systémovej úrovni. Skôr všetkého je to spojené s prítomnosťou u týchto žien infekcií, o čom sme už hore konštatovali.

Stav fagocytárneho reťazca imunity u žien s myómom maternice sme hodnotili podľa hodnôt spontánneho a stimulovaného NST-testu. NST-test sa široko používa v klinických pozorovaniach, tak ako on dovoľuje zisťovať komponenty, ktoré sa tvoria iba pri stimulácii fagocytov a preto on dovoľuje diferencovať objavené sa i aktivované bunky. Okrem toho NST-test odráža výslednú reakciu jedného z kľúčových enzymatických kaskád zodpovedajúcich za efektorový potenciál fagocytov: narušenie schopnosti k obnove NST korešponduje s patológiou oxid -nezávislých mechanizmov biocydnosti , v spojení s týmto stimulovaním, NST-test sa berie ako cytochemické kritérium pripravenosti k dokončeniu fagocytózy (4). Podľa našich údajov u žien základnej skupiny sa nezaznamenali zmeny v ukazovateľoch spontánneho NST-testu, no bola znížená odpoveď neutrofilov na zaťaženie v stimulovanom zymozanom NST-teste (tab.2). Okrem toho, u žien s myómom maternice bola značne znížená rezerva funkčnej aktivity periférnych neutrofilov, hodnotených nami podľa INA. Tento index sa hodnotil nami ako pomer ukazovateľov indukovanej odpovede neutrofilov na zaťaž zymozanom a hladinou ich spontánnej baktericidnosti. Nízke hodnoty INA môžu svedčiť o tom , že fagocyty pracujú už na hrane svojich možnosti a dodatočná stimulácia nepovedie k rozvoju adekvátnej odpovede na antigénny signál. V literatúre nájdeme údaje o tom, že neprítomnosť odpovede na stimuláciu je nedobрым ukazovateľom, skôr všetko svedčí o prechode zápalového procesu na chronickú

formu (4). Neprítomnosť odpovede neutrofilov na dávku u žien s myómom maternice a zníženou rezervou ich funkčnej aktivity pri neprítomnosti zmien v spontánnej NST-aktivity, pravdepodobne môže bezprostredne podmieňovať vysoký výskyt chronických zápalových ochorení u žien s myómom maternice, o čom už bola vyššie zmienka. Takýmto spôsobom u pacientok s myómom maternice je podstatná zmena v stave imunitného systému, ktorý potrebuje korekciu.

Polyoxidonium je vysokomolekulárna zlúčenina prejavujúca sa výraznou imunomodulačnou aktivitou. Preparát bol vyrobený a vyskúšaný v ŠVU-Inštitut imunológie MZ RF, odsúhlasený k použitiu od 1996 roku, reg. č. 96/302/9, FS 42-3906-00. Imunomodulačný efekt polyoxidonia je spojený s jeho schopnosťou aktivovať bunky monocytárno – makrofagálneho systému, čo má za následok zvýšenie schopnosti prirodzených killerov a antigén špecifických T-killerov zabíjať bunky infikované vnutribunkovými pôvodcami. Okrem toho preparát má detoxikačný, antioxidačný a membranoprotektórny účinok. Už v počiatkoch sa polyoxidonium úspešne použil v liečbe chorých so zápalovými ochoreniami urogenitálneho traktu, podmieneného chlamídiami, ureaplazmami, herpes vírusom (5).

Všetkým pacientkám s myómom maternice súčasne s podávaním polyoxidonia sa vykonávala etiotropná antibakteriálna a/alebo antivírusová terapia až do eliminácie pôvodcu podľa výsledkov kontrolnej mikroenzymatickej analýzy.

Polyoxidonium sme podávali v supozitórií po 0,006 g podľa všeobecnej schémy: prvé tri dni, každý deň na noc po očistení tenkého čreva, potom každý druhý deň; celkovo 10 ráz. Imunologické vyšetrenie pacientok sme uskutočnili po dvoch týždňoch od skončenia liečby a preukázalo normalizáciu ukazovateľov populačného stavu a parametrov aktivácie periférnych T-lymfocytov, funkcionálneho stavu B-lymfocytov a neutrofilov (tab.1 a 2). Najväčší vplyv daný preparát preukázal na dynamiku ukazovateľa CD38-pozitívnych T-lymfocytov v periférnej krvi. Zaznamenalo sa zníženie jeho individuálnej hladiny v ráde prípadov v 2-5 ráz; priemerný význam sa znížil z $31,64 \pm 2,9\%$ na $20,7 \pm 4,8\%$ čo odpovedá normatívnym hodnotám a slúži ako pozitívny prognostický znak rastu nádoru.

Nami boli preskúmané nejasné výsledky uskutočnenej liečby. Všetky pacientky hodnotili zlepšenie všeobecného stavu, zvýšenie práceschopnosti, akútne respiračné infekcie v priebehu 12-18 mesiacov po skončení liečby sa nevyskytli. Pacientky konštatovali normalizáciu menštruačných funkcií, vymiznutie bolestivého syndrómu. Ani u jednej chorej v priebehu 12 mesiacov dynamického pozorovania sa nezaznamenalo zväčšenie rozmerov už existujúcich a tvorbu nových myómatózných uzlov; a u dvoch pacientok pri niekoľkonásobnom opakovaní ultrazvukových vyšetrení sa zaznamenala regresia jednotlivých uzlov rozmerov 10mm a 12mm. Prípady opakovanej neproduktívnej straty u našich pacientok sa nezaznamenali. V súčasnosti tri ženy sú tehotné, u dvoch pacientok sa narodili zdravé donosené deti.

Takýmto obrazom, používanie polyoxidonia v liečbe žien s myómom maternice viedlo k normalizácii základných imunologických ukazovateľov periférnej krvi pacientok, prejavujúcich sa v znížení množstva prirodzených killerov, hladiny aktivácie lymfocytov a znovuobnovení rezervy funkčnej aktivity periférnych neutrofilov. Treba tiež poznamenať blahodárny vplyv preparátu na ďalší priebeh ochorenia a produktívnu funkciu žien. Kladný kliniko – laboratórny efekt, dosiahnutý pri použití preparátu Polyoxidonia u žien reprodukčného veku s myómom maternice malých rozmerov, dovoľuje nám ho odporučiť k použitiu u daného typu ochorenia.

Tab.1. Porovnanie charakteristík zvláštnosti populačného zloženia a aktivácie lymfocytov periférnej krvi u žien s myómom maternice malých rozmerov v dynamike pred a po skončení liečby i zdravých žien.

Ukazovateľ, %	Kontrolná skupina (n=10)	Ženy s malým myómom maternice pred liečbou (n=17)	Ženy s malým myómom maternice po skončení liečby (n= 8)
CD3+	67,59 ± 1,61	64,22 ± 2,46	67,76 ± 2,1
CD4+	42,25 ± 1,66	37,76 ± 2,08	36,32 ± 3,12
CD8+	20,05 ± 0,80	20,65 ± 1,7	21,97 ± 1,77
CD16+	14,75 ± 0,74	20,04 ± 1,9*	16,4 ± 3,21
CD20+	7,1 ± 0,94	10,2 ± 1,74	8,28 ± 0,91
CD25+	4,59 ± 0,64	8,18 ± 1,05**	3,92 ± 0,5
CD71+	4,33 ± 0,93	8,23 ± 1,5*	5,17 ± 0,8
CD4+/CD25+	3,78 ± 0,49	4,86 ± 0,39	3,14 ± 0,42
CD4+/CD71+	2,54 ± 0,70	4,76 ± 0,7*	3,71 ± 0,7
HLA-DR+	8,89 ± 0,64	13,04 ± 1,7*	9,28 ± 1,03
CD38+	14,5 ± 1,91	31,64 ± 2,9****^^	20,7 ± 4,8
CD3+/HLA-DR+	4,74 ± 0,98	4,09 ± 0,97	2,57 ± 0,44
CD3+/CD38+	7,49 ± 1,23	12,13 ± 2,2**	6,28 ± 2,1

*- signifikantne rozdiely medzi výsledkami skupín žien s myómom maternice i kontrolnej skupiny

^ - signifikantne rozdiely medzi výsledkami skupín žien s myómom maternice pred a po liečbe

*-p<0,05; **-p<0,02; ****-p<0,001; ^^p<0,01

Tab. 2. Porovnanie charakteristík parametrov funkcionálnej aktivity T- a B-lymfocytov a neutrofilov periférnej krvi u žien s myómom maternice malých rozmerov v dynamike pred a po liečbe a zdravých žien.

Ukazovateľ	Kontrolná skupina	Ženy s malým myómom maternice pred liečbou	Ženy s malým myómom maternice po skončení liečby
CIK, %	2,81 ± 0,40(n=30)	4,43 ± 0,6*(n=13)	4,2 ± 0,8(n=10)
IgG, g/l	8,37 ± 0,58(n=30)	10,38 ± 1,84(n=11)	10,57 ± 0,71(n=16)
IgA, g/l	1,51 ± 0,11(n=30)	1,41 ± 0,19(n=11)	1,81 ± 0,08(n=16)
IgM, g/l	1,26 ± 0,07(n=30)	1,46 ± 0,3(n=11)	1,38 ± 0,06(n=16)
NST, %	18,45 ± 1,27(n=23)	24,5 ± 3,4(n=14)	15,71 ± 2,5(n=7)
NSTz, %	44,77 ± 2,63(n=26)	30,2 ± 3,7*** (n=14)	26,2 ± 5,06** (n=7)
INA	1,28 ± 0,23(n=20)	0,44 ± 0,2** (n=14)	0,89 ± 0,4(n=7)

*-signifikantne rozdiely medzi výsledkami skupín žien s myómom maternice a kontrolnej skupiny

*-p<0,05; **-p<0,02; ****-p<0,001

Literatúra.

- 1., Vichlyaeva E.M.
Adjuvantna terapia pri myóme maternice.
Vestník RAMN. – 1997. No.2 s. 16-20
- 2., Ketlinskij S.A., Kalinina N.M.
Imunológia pre lekára. Sb.1998.- s.12-41
- 3., Malyškina A.I., Posiseeva L.V., Sotnikova N.J., Anciferova J.S.
Používanie imunologických ukazovateľov pre prognózu rastu myómu maternice.
AG-info. Žurnál Ruskej asociácie gynekológov. No.3, 2002, s.26-27
- 4., Majanskij A.N., Pikuza O.N.
Klinické aspekty fagocytózy.
Kazaň: „Magarif“, 1993, s.192
- 5., Pinegin B.V., Ilin N.I., Latyševa T.V., a kol.
Klinické aspekty používania imunomodulátora polyoxidonia (metodické odporúčania pre lekárov) M. – 2002. s.23
- 6., Samojlova T.E.,
Myóm maternice. Predpoklady neoperatívnej liečby.
Problémy reprodukcie. 2003. No4. s.33-36
- 7., Sidorova I.S., Karaulov A.V., Kurašvili J.B.
K otázkam o patogenéze „ložného rastú“ myómu maternice u žien reprodukčného veku.
Vestník Ruskej asociácie gynekológov. 1998. No.4 s.86-88
- 8., Tichomirov A.L.,
Patogenetické predpoklady skorej diagnostiky, liečby a profilaktiky myómu maternice.
Autoref., diser.pr.dok.med. Moskva 1998
- 9., Hrycet A., Cuzytek A., Tustanowski J.
Immunological disorders in patients with uterine myomas.
Wiad-Lek.-2000. –V.53 No.5-6 p.271-276
- 10., Nowak R.A.
Novel therapeutic strategies for leiomyomas: targeting growth factors and their receptors.
Environ. Health Perspect. 2000 V.108 Suppl.-p.5849-5853