

Никушина Анна Алексеевна

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ VSG-ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ
ПОВЕРХНОСТНЫМ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ**

14.00.40 – «урология»

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

МОСКВА 2004

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте урологии МЗ РФ

Научный руководитель:

доктор медицинских наук
Камалов Армаис Альбертович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
Чепуров Александр Константинович

доктор медицинских наук
Борисов Владимир Викторович

Ведущее учреждение:

Московский областной научно-исследовательский клинический
институт им. М.Ф. Владимирского

Защита состоится «09» ноября 2004 года в _____ часов на заседании Диссертационного совета
Д 208.056.01 при Научно-исследовательском институте урологии МЗ РФ по адресу:
105425, Москва, 3-я Парковая ул., дом 51.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-исследовательского института
урологии МЗ РФ.

Автореферат разослан «12» октября 2004 года.

Ученый секретарь Диссертационного совета
Д 208.056.01 при НИИ урологии МЗ РФ,
доктор медицинских наук

Перепанова Т.С.

Актуальность проблемы

В последние годы иммунопрофилактика и иммунотерапия опухолей мочевого пузыря получили широкое распространение. Из числа известных иммуномодуляторов чаще используют вакцину BCG, реже – интерферон, ОК-432 и другие. Иммунотерапия поверхностного рака мочевого пузыря получила широкое распространение после того, как в 1976 году Morales и соавторы впервые опубликовали данные об эффективном внутрипузырном применении вакцины BCG при поверхностных новообразованиях мочевого пузыря (Lamm D.L., 1980). С тех пор во многих проспективных рандомизированных клинических исследованиях была продемонстрирована высокая противоопухолевая активность вакцины BCG в отношении поверхностного переходно-клеточного папиллярного рака мочевого пузыря и рака *in situ*.

При адьювантном применении BCG-терапии после трансуретральной резекции при сравнении с оперативным лечением одним или в комбинации с адьювантным применением химиопрепаратов выявлены лучшие результаты.

В отечественной литературе были опубликованы работы, в которых отмечена достаточно высокая эффективность BCG-терапии у больных раком мочевого пузыря (Аль-Шукри С.Х., 1995; Корнеев И.А., 1996; Матвеев Б.П., 1995; Ткачук В.Н., 1998; Фигурин К.М., 1993). Если для удаления опухоли мочевого пузыря чаще всего применяется трансуретральная резекция, то внутрипузырная иммунотерапия предназначена для профилактики рецидивов заболевания и предупреждения прогрессии.

В настоящее время отказались от внутрикожного и подкожного путей введения из-за их низкой эффективности и отдают предпочтение внутривезикулярному вливанию как наиболее эффективному и наименее токсичному. На сегодняшний день не до конца решены целый ряд вопросов, такие как эффективность и токсичность вакцинных штаммов BCG, пути и режимы введения, целесообразность индуцирующей и поддерживающей терапии, дозирование препарата. В литературе недостаточно освещены клинические, морфологические и иммунологические особенности иммунотерапии поверхностного рака мочевого пузыря.

Все вышеперечисленное послужило основой для проведения данного исследования.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения больных с первичным и рецидивным поверхностным раком мочевого пузыря и выработка критериев эффективности иммунотерапии и иммунопрофилактики BCG-вакциной.

Задачи исследования

1. Определить эффективность длительной терапии вакциной BCG у пациентов с первичным и рецидивным поверхностным переходно-клеточным раком мочевого пузыря.

2. Выявить осложнения внутривезикулярного введения BCG вакцины, оценить их опасность, способы своевременной диагностики, профилактики и лечения.
3. Определить показания и противопоказания к иммунотерапии вакциной BCG.
4. Выяснить морфологические особенности вторичных изменений слизистой оболочки мочевого пузыря при терапии BCG-вакциной.
5. Определить критерии прогнозирования эффективности BCG-терапии у пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря.

Научная новизна

1. Доказана клиническая эффективность длительной терапии (годового поддерживающего курса) поверхностного рака мочевого пузыря вакциной BCG.
2. Доказана эффективность BCG-терапии в течение 7-летнего безрецидивного периода наблюдения пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря.
3. Применение BCG-терапии формирует ответ со стороны лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой, в частности, субпопуляционным составом эффекторных клеток, обладающими киллерными функциями, аналогичный иммунологическому ответу на наличие

злокачественного новообразования эпителиальной природы. Применение BCG-терапии является эффективным способом стимуляции противоопухолевого иммунитета в послеоперационном периоде у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря.

4. Впервые выявлена способность персистенции *Mycobacterium bovis* BCG у пациентов, что в дальнейшем может явиться критерием эффективности иммунотерапии и требует более длительных исследований (более 5 лет).

Практическая значимость

Установлено, что отечественная вакцина BCG «Имурон» при внутрипузырном ведении в течение года по предложенной схеме явилась высокоэффективным средством профилактики рецидивов поверхностного рака мочевого пузыря.

Продемонстрировано, что годовой курс внутрипузырной профилактической BCG-терапии позволяет увеличить безрецидивную выживаемость.

Отмеченные в нашем исследовании осложнения (стойкая дизурия и обострение ревматоидного артрита) требуют более тщательного обследования пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря с учетом их сопутствующих заболеваний. Выявленные побочные явления (дизурия, гематурия, гипертермия и др.) BCG-терапии не требуют прерывания

длительной схемы лечения, и без дополнительной терапии купируются в течение первых двух-трех суток.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. BCG-терапия является высокоэффективным методом профилактики поверхностного переходно-клеточного рака мочевого пузыря. Длительная терапия годовым поддерживающим курсом показала снижение рецидивирования заболевания у пациентов с 7-летним сроком наблюдения.
2. На основании анализа состояния слизистой оболочки мочевого пузыря показано формирование ответа со стороны лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой мочевого пузыря, в частности перераспределение эффекторных клеток, обладающих киллерными функциями, аналогичными иммунному ответу на наличие злокачественного новообразования эпителиальной природы.
3. На основании морфологических и иммунологических особенностей выявлена персистенция *Mycobacterium bovis* BCG у группы пациентов в течение не менее 4 месяцев после инстилляций.

Связь с планом научных исследований

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ (НИР) НИИ урологии МЗ РФ, номер государственной регистрации

01.200.2 00270, а также в соответствии с планом НИР Межведомственного научного совета по Уронефрологии (№24) и проблемной комиссии 24.04 РАМН и МЗ РФ.

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практику отделений Научно-исследовательского института урологии МЗ РФ и Городской Клинической Урологической больницы № 47 г. Москвы.

Апробация работы

Основные положения работы доложены на:

1. Конгрессе «Человек и лекарство», 02-05 апреля 2001, г.Москва. Программный доклад «Методы лечения рака мочевого пузыря».
2. Научно-практической конференции «Рак мочевого пузыря», 21-22 ноября 2001, г. Ярославль. Программный доклад «Профилактика рака мочевого пузыря».
3. Научно-практической конференции «Туберкулез и рак мочевой системы: вопросы дифференциальной диагностики и лечения». 27-29 марта 2002, Новосибирск. Программный доклад: «Выявление персистенции M.Bovis BCG при иммунотерапии рака мочевого пузыря с применением ПЦР тест-системы «АмплиСенс БЦЖ».

Апробация диссертации проведена на заседании Координационного Совета №3 Научно-исследовательского института урологии МЗ РФ 3 июня 2004 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ.

Объем и структура диссертации

Диссертация написана на 116 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, трех глав собственного материала, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 4 рисунками. Библиография представлена 29 отечественными и 59 зарубежными источниками.

Содержание работы

Настоящая работа посвящена клиническим и морфологическим аспектам иммунотерапии поверхностного рака мочевого пузыря вакциной VCG по схеме, применяемой в Научно-исследовательском институте урологии МЗ РФ с 1998 года.

В основе работы лежит определение эффективности длительной терапии поверхностного рака мочевого пузыря и критериев прогнозирования, выявление осложнений данной терапии, дополнительных показаний и

противопоказаний, выяснение морфологических особенностей вторичных изменений слизистой оболочки мочевого пузыря.

Основу исследования составили 94 пациента поверхностным переходноклеточным раком мочевого пузыря после перенесенных трансуретральных резекций, находившихся на лечении в Научно-исследовательском институте урологии и 47 Городской Клинической урологической больницы. Из них, 47 пациентов составили основную группу: 36 мужчин (средний возраст 61 год) и 11 женщин (средний возраст 57 лет), которым после оперативного лечения проводился годовой курс BCG-терапии, при этом 26 пациентов были с первичными опухолями и 21 - с рецидивными. У 17 пациентов имелись единичные опухоли и у 30 пациентов - множественные.

BCG-терапию проводили у 43 пациентов основной группы с интеркуррентными заболеваниями различной степени выраженности, (таблица № 1), это требовало дополнительных методов обследования.

Таблица № 1.

Сопутствующие заболевания у пациентов основной и контрольной групп.

Сопутствующие заболевания	Основная группа		Контрольная группа	
	абс.	%	абс.	%
Язвенная болезнь	4	8,51	3	6,38
Сахарный диабет II типа	3	6,38	5	10,64
Тиреоидит	1	2,13	0	0

Аллергия	7	14,89	5	10,64
Артроз тазобедренного сустава	1	2,13	0	0
Сморщенная почка	4	8,51	2	4,26
Мочекаменная болезнь	3	6,38	6	12,77
Аденома простаты	12	25,53	20	42,55
Хронический простатит	5	10,64	7	14,89
Аденокарцинома простаты	2	4,26	0	0
Эмфизема легких, хронический бронхит	4	8,51	6	12,77
Артериальная гипертензия	14	29,79	18	38,30
Ишемия, атеросклероз сосудов	17	36,17	15	31,91

Лишь у 4 (8,51 %) пациентов молодого возраста сопутствующие заболевания не были выявлены.

Контрольную группу составили 47 пациентов также с поверхностным раком мочевого пузыря, которые после трансуретральных резекций по разным причинам отказались от дальнейшего лечения (иммунотерапии, химиотерапии и др.), либо оно было невозможным из-за отсутствия условий проведения лечения по месту жительства. В контрольную группу вошли 38 мужчин (средний возраст 63 года) и 9 женщин (средний возраст 60 лет), во время трансуретральных резекций мочевого пузыря им удалялись единичные (у 15 пациентов) и множественные (у 32 пациентов) опухоли. При этом у 25

пациентов опухоль мочевого пузыря была выявлена впервые, а у 22 пациентов удаляли рецидивные опухоли. Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, течению болезни, стадии заболевания, степени злокачественности и по сопутствующим заболеваниям.

Трансуретральную резекцию мочевого пузыря производили всем пациентам обеих групп по стандартной методике: резекцию мочевого пузыря и биопсию из ближайших и отдаленных от опухоли участков слизистой оболочки органа.

Диагноз и стадию опухолевого заболевания устанавливали на основании результатов гистологического исследования материалов, полученных при ступенчатых биопсиях мочевого пузыря, которые позволяли определить распространенность и степень дифференцировки опухолевого процесса, выраженность паранеопластических признаков. Переходно-клеточный рак 2 степени дифференцировки выявлен в большинстве случаев – в основной группе у 78,72 % пациентов, а в контрольной – у 63,80 % (таблица № 2).

Как видно из таблицы № 2, в основную группу вошли 9 (19,15 %) пациентов со стадией заболевания T_a и 38 (80,85%) пациентов со стадией заболевания T₁, в контрольную группу – со стадией T_a 14 (29,80 %) пациентов и T₁ - 33 (70,20 %) пациента.

Таблица № 2.

Распределение пациентов по стадиям заболевания и степени злокачественности.

	Всего	Ta	T1	G1	G2	G3
Пациенты, получавшие BCG-терапию.	100%	19,15%	80,85%	12,77%	78,72%	8,51%
	47	9	38	6	37	4
Контрольная группа пациентов.	100%	29,8%	70,2%	12,8%	63,8%	23,4%
	47	14	33	6	30	11

Стадия заболевания соответствовала Ta, T1, а степень дифференцировки опухоли – G1, G2, G3.

На основании гистологического заключения, распространенности опухолевого процесса и стадии заболевания выставляли показания к иммунотерапии.

Выбором метода иммунотерапии являлась BCG-терапия. Для выполнения иммунотерапии мы использовали отечественный препарат, выпускаемый предприятием по производству бактериальных препаратов НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалея РАМН, «Имурон» – живые микобактерии вакцинного штамма BCG-1, лиофилизированные в 1,5%-ном растворе глутамината натрия. Для проведения внутривезикулярной инстилляций 100-120 мг. вакцины Имурон (1 000 000 000 КОЕ) растворяли в

50мл. физиологического раствора и вводились в мочевого пузырь по схеме (А.А. Камалов, 1998г.):

1 раз в неделю в течение первого месяца,

1 раз в две недели в течение последующего месяца и затем

1 раз в месяц – 10 месяцев.

Во время проведения процедур мы соблюдали все требования и меры предосторожности, указанные в инструкции препарата.

Иммунотерапия протекала с индивидуальными особенностями и у каждого пациента сопровождалась клиническими симптомами раздражения нижних мочевых путей (таблица № 3).

12 пациентов (25,53%) основной группы отмечали легкое «жжение» в уретре и 22 пациента (46,81) выраженную дизурию, по-видимому, связанные с катетеризацией мочевого пузыря, купирующиеся в течение первых 2-3 суток после инстилляций без применения дополнительного лечения. У пациентов часто симптомы раздражения мочевых путей развивались после второй или третьей инстилляции BCG и при этом в посевах мочи не обнаруживалось бактериальной флоры. Мы считаем, что симптомы раздражения развиваются в результате, во-первых, непосредственного воздействия BCG на слизистую оболочку мочевого пузыря и, во-вторых, иммунного ответа, происходящего в уротелии. Еще одним симптомом BCG-терапии являлась гематурия, которая наблюдалась в 7 (14,89 %) случаях, купировалась самостоятельно и не требовала соответствующей терапии.

Таблица № 3.

Побочные явления иммунотерапии.

Побочные явления	Абс.	%
1. Дизурия:		
«жжение» в уретре	12	25,53
боль при мочеиспускании	3	6,38
учащенные позывы	2	4,26
дизурия 2-3 суток	22	46,81
2. Гематурия:		
капля крови при мочеиспускании	2	4,26
макрогематурия 2 суток	7	14,89
3. Гипертермия:		
Т тела до 37,5 С	9	19,15
Т тела выше 37,5 С	7	14,89
4. Гриппоподобные явления	3	6,38
5. Другие:		
боль в суставах	2	4,26

Подъем температуры тела до 37,5 С с гриппоподобным состоянием, отмечали у 9 пациентов (19,15 %), что также не требовало назначения лечения. В тех

случаях, когда у 7 пациентов (14,89 %) отмечали подъем температуры тела выше 37,5 С с ознобом и у 2 пациентов (4,26 %) с болями в суставах, требовался прием антипиретиков и анальгетиков.

Все эти симптомы с нашей точки зрения нельзя назвать осложнениями BCG-терапии, мы рассматриваем их как побочные явления самой иммунотерапии.

Лишь у 4 пациентов (8,51 %) была прекращена иммунотерапия из-за индивидуальной непереносимости вакцины – в двух случаях после 6 месяцев терапии на фоне выраженной стойкой дизурии и в двух случаях из-за обострения ревматоидного артрита после второй инстилляций. Однако, несмотря на прерывание годового курса BCG-иммунотерапии, этим пациентам производились контрольные исследования в течение последующих трех лет - рецидива заболевания не было выявлено.

Критериями эффективности терапии являлась длительность безрецидивного течения заболевания. Анализ результатов лечения показал, что рецидивирование опухолей мочевого пузыря у пациентов основной группы возникало в пять раз реже по сравнению с контрольной группой. При этом изучили отдаленные результаты иммунотерапии через 5 и 7 лет наблюдения.

По итогам 5-летнего наблюдения из 47 пациентов основной группы (получавших иммунотерапию вакциной BCG) рецидив наступил у 6 пациентов (12,77 %), а из 47 пациентов контрольной группы рецидив возник у 30 (63,83 %), что в пять раз выше (таблица № 4).

В наблюдениях до 5 лет в основной группе пациентов, получавших иммунотерапию, со стадией заболевания T_a, прогрессирования заболевания не было выявлено. Однако в контрольной группе их было 14,3%. При стадии заболевания T₁ в контрольной группе процент прогрессирования в три раза выше.

Таблица № 4.

Рецидивы заболевания у больных раком мочевого пузыря в основной и контрольной группах.

		До 1 года			До 2 лет			До 3 лет			До 5 лет			Всего рец	
		кол	реци-		кол	реци-		кол	реци-		кол	реци-		кол	
		б-х	див, %		б-х	див, %		б-х	див, %		б-х	див, %		б-х	
T_a	О	9	1	11,11	9	0	0	8	0	0	4	0	0	1	11,11
	к	14	2	14,28	12	2	16,67	10	1	10,00	9	2	22,22	7	50,00
T₁	О	38	2	5,26	36	2	5,56	25	1	4,00	13	0	0	5	13,16
	к	33	7	21,21	26	7	26,92	19	5	26,32	14	4	28,57	23	69,70
Σ	о	47	3	6,38	45	2	4,44	33	1	3,03	17	0	0	6	12,77
	к	47	9	19,15	38	9	23,68	29	6	20,69	23	6	26,09	30	63,83

Сравнивая данные 7-летнего наблюдения пациентов с проведенным годовым курсом BCG-терапии после трансуретральных резекций мочевого пузыря с пациентами контрольной группы, было отмечено, что рецидив

заболевания наступил в 12,77 % случаев – у 6 пациентов основной группы, а в контрольной группе – у 20 пациентов (42,56 %).

Таким образом, внутривезикулярная BCG-терапия является высокоэффективным методом профилактики рецидивирования поверхностного переходного клеточного рака мочевого пузыря. Она позволяет уменьшить частоту рецидивов в 5 раз.

Для уточнения характера возможных изменений уротелия на фоне многократного введения вакцины всем пациентам в разные сроки BCG-терапии выполняли контрольную цистоскопию с биопсией мочевого пузыря. Сравнивали клеточный состав в биоптате с картиной рака мочевого пузыря и хронического цистита, для этого создали дополнительную контрольную группу из 9 пациентов с хроническим циститом. По окончании годового курса BCG-терапии также изучали биопсийный материал, который представлял собой картину, так называемого, BCG-индуцированного цистита с присущими только ему характерными особенностями.

Анализ распределения мононуклеаров показывает (таблица № 5), что доминируют лимфоциты, кодируемые антигенами CD-8 и CD-16 (НК-клетки).

Таблица № 5.

Распределение клеточных форм при различных состояниях слизистой оболочки мочевого пузыря.

Вид мононуклеаров	Состояние слизистой оболочки мочевого пузыря		
	Рак	Хронический цистит	BCG-цистит
CD-8 Т-клетки	62,36+1,12%	6,54+1,52%	57,42+1,68%
НК-клетки	10,21+0,71%	5,23+0,12%	8,56+2,02%

Как видно из представленной таблицы при раке мочевого пузыря концентрация CD-8 составляет 62,36 %, а при хроническом цистите - 6,54 %. Обращает на себя внимание тот факт, что через 6 месяцев после введения BCG-вакцины повышены те же клеточные формы, которые доминировали при злокачественном новообразовании, но в несколько меньшей степени – концентрация CD-8 составляет 57,42 %. Однако, анализируя концентрацию мононуклеаров в зависимости от степени дифференцировки опухоли, заметили, что величина концентрации мононуклеаров при введении BCG-вакцины меньше только по сравнению с высокодифференцированными опухолями – 83,13 % (таблица № 6).

Таблица № 6.

Сравнительная характеристика изменений лимфоидных элементов в слизистой оболочке мочевого пузыря в зависимости от степени дифференцировки переходно-клеточного рака.

Клеточный тип	Степень дифференцировки Переходно-клеточного рака		
	1	2	3
CD-8 Т клетки	83,13+1,19%	33,74+0,51%	12,15+1,81%
НК-клетки	6,52+1,63%	11,21+1,47%	15,02+2,11%

Сравнение с умеренно- (33,74 %) и низкодифференцированными (12,15 %) гистологическими формами рака мочевого пузыря оканчивается в пользу VCG-индуцированного цистита (57.42 %). Противоположная динамика отмечена в концентрации НК-клеток: чем выше степень чужеродности опухолевой ткани по отношению к исходному эпителию (6,52 % при G1, 11,21 % при G2, 15,02 % при G3), тем более агрессивно ведет себя иммунокомпетентная система. Поэтому концентрация НК-клеток, несущих антиген CD-16, возрастает в большей степени.

Параллельно с морфологическими исследованиями производили анализ посева осадка суточной мочи методом полимеразной цепной реакции, а так же исследование иммунного статуса и контрольные общеклинические исследования. В клиническом анализе крови обращали внимание на повышение лимфоцитов и эозинофильных нейтрофилов, а в общем анализе мочи – на осадок (наличие слизи и эпителия). Эти показатели, как и данные гистологического исследования биоптата мочевого пузыря, могут являться

критериями наличия воспалительного процесса в мочевом пузыре - BCG-индуцированного цистита.

До настоящего времени не существует общепризнанных критериев оценки эффективности BCG-терапии, что является для многих исследователей в этой области приоритетным направлением. Поставив начальную задачу - выявить критерии прогнозирования эффективности данной терапии мы приступили к поиску иммунологических критериев эффективности BCG-терапии.

Для решения поставленной задачи нами был использован метод полимеразной цепной реакции с помощью тест-системы «Ампли-Сенс БЦЖ», который позволяет выявить присутствие ДНК *Mycobacterium bovis* BCG в мочевом пузыре на разных сроках иммунотерапии препаратом Имурон.

Всего обследовано 19 пациентов, из них у 9 (47,37%) человек с диагнозом фиброзный цистит пробы осадка суточной мочи были отобраны нами в исследование в качестве контрольной группы. 10 пациентов (52,63%) проходили курс BCG-иммунотерапии препаратом Имурон, каждый из них получил от 6 до 16 инстилляций в течение года. Исследования проводили на разных сроках после завершения курса инстилляций от 5 дней до 13 месяцев.

В нашем исследовании после окончания годового курса BCG-иммунотерапии у троих пациентов (30 %) в осадке суточной мочи была обнаружена ДНК *Mycobacterium bovis* BCG. При повторном исследовании мочи через 4, 5, 10 и 12 месяцев ДНК *Mycobacterium bovis* BCG была

обнаружена у этих же больных. У больных с циститами, которые не получали инстилляций Имурона (9 человек (47,37 %) - контрольная группа), ДНК *Mycobacterium bovis* BCG, поэтому, в осадках мочи не обнаруживалась.

Поскольку присутствие ДНК *Mycobacterium bovis* BCG напрямую связано с активацией факторов естественной резистентности и адаптивного клеточного иммунитета и выработкой цитокинов, представляется важным в дальнейшем установить, можно ли использовать этот метод для мониторинга вместо трудоемкого и дорогостоящего определения цитокинов в моче. Обнаружение среди пациентов группы явно резистентных к BCG (быстро элиминирующих микобактерию) и явно чувствительных (у которых ДНК *Mycobacterium bovis* BCG может персистировать в течение многих месяцев), позволяет провести аналогию с известными экспериментальными данными о генетической детерминированности высокой и низкой чувствительности к микобактериальной инфекции. Причины выраженной резистентности к BCG, выявленной у части пациентов, не ясны. Среди них может быть и высокий уровень естественной резистентности (присутствие эффективно действующих макрофагов, дендритных клеток, гамма-дельта Т-клеток и НК-естественных киллеров) и высокий уровень предшествующего Т-клеточного адаптивного иммунитета (следствие иммунизации против туберкулёза с помощью BCG в неонатальном возрасте) и, видимо, другие причины. В любом случае быстрое выведение ДНК *Mycobacterium bovis* BCG не способствует активации локального иммунитета, необходимого для противоопухолевого действия.

Поэтому не исключено, что именно эти пациенты будут нуждаться в применении иных методов локальной иммунотерапии (применение интерферонов, препаратов гемоцианита и т.д.), поиск которых продолжается, несмотря на очевидный лечебный эффект BCG у значительной части пациентов.

Полученные результаты показывают, что, среди пациентов без видимых нарушений иммунного статуса, можно выделить две группы: у одной из них – 5 пациентов (50 %) ДНК *Mycobacterium bovis* BCG после инстилляций выводится настолько быстро, что она не определялась в моче даже в первые дни после окончания курса. У других 5 больных (50 %) - ДНК *Mycobacterium bovis* BCG может персистировать в течение многих месяцев.

Различные сроки персистенции *Mycobacterium bovis* BCG подтверждались гистологическими методами – по локальному накоплению клеток, способных потенциально разрушить опухолевые клетки. Учитывая литературные данные о предполагаемых механизмах действия, мы на основании исследования биопсийного материала подтверждаем природу BCG-активированных клеток как НК-клеток.

При наличии злокачественного новообразования происходит существенное повышение мононуклеаров, имеющих кодирующие антигены CD-8 и CD-16 (НК-клетки). Повышение концентрации CD-8 обусловлено двумя моментами: необходимостью осуществлять цитотоксический эффект по отношению к клеточным пулам, которые приобрели признаки генетической

разнородности по отношению к базовому уротелию в процессе катаплазии; и необходимостью в супрессорной функции по отношению к НК-клеткам.

Эти BCG-эффекторные клетки для развития требуют присутствия BCG и времени, а различия в длительности персистенции *Mycobacterium bovis* BCG у пациентов, способствуют их появлению.

Проведенные нами исследования показывают смысл дальнейшего определения персистенции *Mycobacterium bovis* BCG в клинических условиях, что поможет выяснить связь между эффектом и длительностью персистенции.

Выявленный феномен, безусловно, заслуживает внимания, но в настоящее время не может быть однозначно трактован. Мы надеемся, что дальнейшие, многолетние исследования (свыше 5 лет) в этом направлении позволят окончательно установить взаимосвязь между фактором персистенции ДНК и возникновением рецидива заболевания, как критерия оценки эффективности BCG-терапии

Выводы.

1. Годовой курс иммунотерапии вакциной BCG является эффективным методом лечения пациентов поверхностным переходно-клеточным раком мочевого пузыря, приводит к уменьшению частоты возникновения рецидива заболевания в пять раз.

2. Осложнениями BCG-терапии являются стойкая, не купирующаяся дизурия и обострение ревматоидного артрита, которые требуют отмены проводимого лечения.
3. Побочные явления BCG-терапии встречаются у всех пациентов в виде дизурии, гематурии и гипертермии, которые самостоятельно купируются без дополнительного лечения и не требуют прерывания курса иммунотерапии.
4. Иммунологический ответ лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой мочевого пузыря, при введении вакцины BCG аналогичен, по морфологическим критериям, иммунологическому ответу развития злокачественного новообразования. BCG-терапия при раке мочевого пузыря в послеоперационном периоде стимулирует активность эффекторных мононуклеаров.
5. При BCG-индуцированном цистите одним из основных вариантов вторичных изменений является выраженный склероз собственной пластинки слизистой оболочки мочевого пузыря и подслизистого слоя.
6. В формальных показателях иммунного статуса у больных раком мочевого пузыря при BCG-терапии никаких существенных различий по сравнению с пациентами, страдающими хроническим циститом, не обнаружено.
7. Наличие BCG-индуцированного цистита, а, значит, и персистенции *Mycobacterium bovis* BCG, подтверждали повышением показателей лимфоцитоза, эозинофилии и наличием осадка мочи, а также по данным гистологического исследования биоптата мочевого пузыря.

8. Персистенция *Mycobacterium bovis* BCG в мочевом пузыре отмечается у 50 % больных, получавших BCG-терапию, и сохраняется в течение 4 и более месяцев после завершения курса инстилляций.

Практические рекомендации.

1. Внутрипузырная BCG-терапия должна проводиться при строгом соблюдении инструкции по применению вакцины BCG. На основании собственных исследований, мы рекомендуем схему проведения терапии годовым курсом.
2. Для исключения возможных осложнений BCG-терапии, перед ее началом необходимо исследовать также иммунологический статус пациента и клинико-лабораторные показатели, позволяющие выявить наличие системных заболеваний.
3. Метод полимеразной цепной реакции с использованием тест-системы «Ампли-Сенс БЦЖ» позволяет выявить в мочевом пузыре больных присутствие ДНК *Mycobacterium bovis* BCG на разных сроках иммунотерапии.
4. При динамическом наблюдении пациентов с целью контроля эффективности BCG-терапии во время годового курса, целесообразно каждые три месяца проводить цистоскопию, при необходимости биопсию мочевого пузыря и посев суточной мочи – для выявления персистенции *Mycobacterium bovis* BCG.
5. Определение субпопуляционного состава мононуклеаров, особенно НК-клеток, с помощью морфологического исследования биопсийного или

эксfolлиативного материала является в послеоперационном периоде методом мониторинга отсутствия опухолевых изменений в уротелии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. «5-летнее наблюдение больных поверхностным раком мочевого пузыря, получавших BCG-иммунотерапию» // В кн.: «Современные возможности и новые направления в диагностике и лечении рака почки, мочевого пузыря, предстательной железы. Материалы Всероссийской научно-практической конференции», 25-27 июня 2001,- Уфа,- с. 206-207 (соавт. Камалов А.А., Токарев Ф.В.).
2. «Побочные эффекты и осложнения BCG-терапии.» // В кн.: «Современные возможности и новые направления в диагностике и лечении рака почки, мочевого пузыря, предстательной железы. Материалы Всероссийской научно-практической конференции», 25-27 июня 2001,- Уфа,- с. 258-259 (соавт. Камалов А.А., Гушин Б.Л., Токарев Ф.В.).
3. «Результаты лечения больных поверхностным раком мочевого пузыря, получавших BCG-иммунотерапию. 5-летнее наблюдение». // В кн.: «Актуальные вопросы лечения онкоурологических заболеваний. Рак мочевого пузыря. Материалы 4-й Всероссийской научной конференции с участием стран СНГ».-11-12 октября 2001.- Москва. - с. 60-61 (соавт. Камалов А.А., Токарев Ф.В.).

4. «Осложнения BCG-терапии». // В кн.: «Актуальные вопросы лечения онкоурологических заболеваний. Рак мочевого пузыря. Материалы 4-й Всероссийской научной конференции с участием стран СНГ».-11-12 октября 2001.- Москва.- с. 62-63 (соавт. Камалов А.А., Токарев Ф.В., Гущин Б.Л.).
5. «Трансуретральная резекция мочевого пузыря при стадии рака T2A». // В кн.: «Актуальные вопросы лечения онкоурологических заболеваний. Рак мочевого пузыря. Материалы 4-й Всероссийской научной конференции с участием стран СНГ».-11-12 октября 2001.- Москва.- с. 109-111 (соавт. Камалов А.А., Токарев Ф.В.).
6. «К методике магнитно-резонансной томографии при раке мочевого пузыря». // «Медицинская визуализация».- №3.- 2002.- с.12-17 (соавт. Чураянц В.В., Божко О.В., Олькина О.В., Шотемор Ш.Ш., Токарев Ф.В., Камалов А.А.).
7. «Выявление персистенции M.Bovis BCG при иммунотерапии рака мочевого пузыря с применением ПЦР тест-системы «АмплиСенс БЦЖ». // В кн.: «Туберкулез и рак мочевой системы: вопросы дифференциальной диагностики и лечения. Материалы научно-практической конференции», 27-29 марта 2002.- Новосибирск.-с.103 (соавт. Космиади Г.А., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Сорокина М.А., Шипулин Г.А.).
8. «Новые возможности магниторезонансной томографии в диагностике рака мочевого пузыря». // В кн.: «Материалы межрегиональной конференции, посвященной 40-летию Воронежского научно-практического общества урологов. Рак мочевого пузыря». – Воронеж, - 27-28 июня 2002г.- с.34-36

(соавт. Камалов А.А., Токарев Ф.В., Чураянц В.В., Божко О.В., Олькина О.В., Шотемор Ш.Ш.).

9. «Персистенция *M. Bovis* BCG и ее обнаружение». // В кн.: «Материалы межрегиональной конференции, посвященной 40-летию Воронежского научно-практического общества урологов. Рак мочевого пузыря». – Воронеж, - 27-28 июня 2002г.- с. 36-37 (соавт. Космиади Г.А., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н., Сорокина М.А., Шипулина Г.А.).