

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2645957

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Кит Олег Иванович (RU), Меньшенина Анна Петровна (RU), Розенко Людмила Яковлевна (RU), Моисеенко Татьяна Ивановна (RU), Франциянц Елена Михайловна (RU), Водолажский Дмитрий Игоревич (RU), Гусарева Марина Александровна (RU), Иозефи Дмитрий Ярославович (RU)*

Заявка № 2017112218

Приоритет изобретения 10 апреля 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 28 февраля 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 10 апреля 2037 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61M 31/00 (2006.01); A61K 35/17 (2006.01); A61K 39/39 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017112218, 10.04.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
10.04.2017

Дата регистрации:
28.02.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 10.04.2017

(45) Опубликовано: 28.02.2018 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
РНИОИ, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Кит Олег Иванович (RU),
Меньшенина Анна Петровна (RU),
Розенко Людмила Яковлевна (RU),
Моисеенко Татьяна Ивановна (RU),
Франциянц Елена Михайловна (RU),
Водолажский Дмитрий Игоревич (RU),
Гусарева Марина Александровна (RU),
Иозефи Дмитрий Ярославович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Ростовский
научно-исследовательский онкологический
институт" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: ТЕРЕХОВ О.В. и др. Лечение
поздних лучевых повреждений мочевого
пузыря. Онкоурология, 2005, N3, с. 43-51. RU
2322999 C2, 27.04.2008. RU 2612090 C1,
02.03.2017. RU 2484132 C2, 10.06.2013. ЕА
15510 В1, 30.08.2011. WO 2016123573 А1,
04.08.2016. ГРИНЕВИЧ Ю.А. Вакцины на
основе антигенпрезентирующих
дендритных клеток в иммунотерапии
больных со (см. прод.)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для лечения лучевых повреждений мочевого пузыря. Способ заключается в том, что во все вершины ромба Михаэлиса вводят по 0,3 мл аутологичной дендритно-клеточной вакцины, полученной с использованием антигенов культуры HeLa. При этом суммарно количество дендритных клеток

за одну процедуру составляет 5000000. Затем проводят повторение такого введения через каждые 2 недели. Курс лечения составляет 5 процедур. Способ позволяет повысить эффективность лечения позднего лучевого цистита у онкологических больных и улучшить качество их жизни. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

злокачественными опухолями. Онкология, 2007, т. 9, N 4, с. 365-370. GAIPL US et al. Kill and spread the word: stimulation of antitumor immune responses in the context of radiotherapy. Immunotherapy. 2014; 6(5): 597-610.

R U 2 6 4 5 9 5 7 C 1

R U 2 6 4 5 9 5 7 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61M 31/00 (2006.01)*A61K 35/17* (2015.01)*A61K 39/39* (2006.01)*A61P 13/10* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61M 31/00 (2006.01); *A61K 35/17* (2006.01); *A61K 39/39* (2006.01)(21)(22) Application: **2017112218, 10.04.2017**(24) Effective date for property rights:
10.04.2017Registration date:
28.02.2018

Priority:

(22) Date of filing: **10.04.2017**(45) Date of publication: **28.02.2018** Bull. № 7

Mail address:

**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63, RNIOL,
Ishoninoj O.G.**

(72) Inventor(s):

**Kit Oleg Ivanovich (RU),
Menshenina Anna Petrovna (RU),
Rozenko Lyudmila Yakovlevna (RU),
Moiseenko Tatyana Ivanovna (RU),
Frantsiyants Elena Mikhajlovna (RU),
Vodolazhskij Dmitrij Igorevich (RU),
Gusareva Marina Aleksandrovna (RU),
Iozefi Dmitrij Yaroslavovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
uchrezhdenie "Rostovskij
nauchno-issledovatel'skij onkologicheskij institut"
Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj
Federatsii (RU)****(54) METHOD OF TREATMENT OF RADIATION INJURIES OF BLADDER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to oncology, and can be used to treat radiation damage to the bladder. Method is that 0.3 ml of autologous dendritic cell vaccine obtained using HeLa culture antigens is injected into all vertices of Michaelis rhombus. In this case total number of dendritic cells

per procedure is 5,000,000. Then repeat this injection every 2 weeks. Course of treatment is 5 procedures.

EFFECT: method allows to increase effectiveness of treatment of late radiation cystitis in cancer patients and improve the quality of their life.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для лечения лучевых повреждений мочевого пузыря.

Основным методом лечения злокачественных опухолей малого таза является лучевая терапия, используемая как самостоятельный метод либо в комбинации с оперативным или химиотерапевтическим пособием.

Несмотря на улучшение материально-технического обеспечения, совершенствования технологии облучения побочное отрицательное действие ионизирующего излучения проявляется в виде различной степени выраженности лучевых повреждений тканей нормальных органов, смежных с очагом злокачественного роста.

В среднем у каждой третьей пациентки формируются лучевые повреждения органов малого таза: мочевого пузыря, прямой кишки и внутритазовой клетчатки (см. Пасов В.В., Бардычев М.С., Терехов О.В. Новые подходы к лечению поздних лучевых повреждений мочевого пузыря у больных со злокачественными новообразованиями органов малого таза (В.В Пасов) /Росс. Онколог., журнал. - 2005, - №5, - С. 16-19).

Лучевое повреждение адвентиции сосудов приводит к утрате их эластичности и ломкости сосудистой стенки. Это клинически обуславливает различной степени гематурию, вплоть до профузного кровотечения. Негативное воздействие ионизирующего излучения на слизистую оболочку и стенки мочевого пузыря проявляется возникновением тромбоза мелких сосудов, затем может наступить ишемизация тканей вплоть до образования лучевых язв. Образующиеся в большом количестве свободные радикалы при проведении лучевой терапии оказывают отрицательное влияние на последующее восстановление поврежденных клеток.

Немаловажную роль в формировании поздних лучевых повреждений играет развитие радиационно-индуцированного фиброза. Клинические проявления лучевого цистита заключаются в выраженной дизурии, синдроме тазовой боли, гематурии, наличия признаков мочевого свища, а также в атаках пиелонефрита (см. Лучевые повреждения органов малого таза. // Основы лучевой диагностики и терапии. Национальные руководства по лучевой диагностике и терапии. Главный редактор серии и тома акад. РАМН С.К. Терновой. М., Изд. гр. «ГЭОТАР-ИЕДИА», - 2012, - С. 972-975).

Радиотерапевтической онкологической группой совместно с Европейской организацией по лечению рака (RTOG/EORTIC) предложена классификация с учетом различий клинических проявлений ранних и поздних лучевых повреждений. Симптомы оцениваются по степени тяжести по пятибалльной шкале: 0 баллов - нет изменений; 1 балл предполагает легкую атрофию эпителия, легкую телеангиоэктазию (микрогематурия); 2 балла - учащенное мочеиспускание, тотальная телеангиоэктазия, преходящая макрогематурия; 3 балла - выраженная частота мочеиспускания и дизурия, выраженная тотальная телеангиоэктазия (часто с петехиями), частая гематурия, уменьшение емкости мочевого пузыря менее 150 мл; 4 балла - некроз/сморщенный мочевой пузырь (емкость 100 мл), выраженный геморрагический цистит; 5 баллов - смерть прямо связанная с поздними радиационными эффектами (см. Дунаева Е.А., Бойко А.В., Демидова Л.В., Вельшер Л.З., Коробкова Л.И., Коробкова А.Ю., Дубовецкая О.В., Телеус Т.А. Консервативные методы профилактики и лечения лучевых повреждений у больных злокачественными новообразованиями женских половых органов. Мед. радиология и радиационная безопасность, - 2015, - Т. 60, - №5, - С. 59-73).

При консервативном лечении лучевого цистита используется, как правило, подход, включающий методы местного воздействия с учетом патогенеза развития местных лучевых повреждений. Лечение носит в основном симптоматический характер.

Используют 10% димексид в объеме 20 мл. Учитывая, что димексид является органическим растворителем и легко проникает в ткани, в раствор добавляют антибиотики (гентамицин, амикацин), фибролизующие (лидаза) и противовоспалительные (преднизолон) препараты. Инсталляции проводят ежедневно по 20 мл, на курс от 10 до 15 процедур. При явлениях микро- и макрогематурии для инсталляций в мочевой пузырь дополнительно применяют 3% колларгол по 20 мл либо для усиления гемостатического эффекта чередуют с инстилляциями охлажденной аминокaproновой кислоты. После стихания воспалительных явлений внутрь мочевого пузыря вводят препараты, усиливающие репараторные процессы в стенке мочевого пузыря - синтомициновую эмульсию и облепиховое масло. Их в подогретом виде вводят 1 раз в день в течение 10-15 дней.

Такой стандартный вариант консервативной терапии, предполагающий длительное стационарное лечение больных, оказывается малоэффективным: у 58% больных сохраняется отек слизистой; у 39% - гиперемия; язвы рубцуются только у 3% пациентов, а телеангиэктазии слизистой сохраняются у 59% женщин (см. Терехов О.В., Бардычев М.С., Карякин О.Б., Пасов В.В. Лечение поздних лучевых повреждений мочевого пузыря. / Ж. Онкоурология, - 2005, - №3, - С. 43-51).

Для реабилитации больных с лучевыми циститами и купирования болевого синдрома предлагалось использовать превезикальное, трансвагинальное, пресакральное введение лекарственных препаратов с этой целью к мочевому пузырю подводился лекарственный «коктейль», состоящий из 250 мл 0,5% новокаина, 0,25% - 1,5 г метилурацила, 1000 мкг витамина В12, 125 мг гидрокортизона и 500000 ЕД мономицина (см. Задерин В.П., Поляничко М.Ф. Терапия поздних осложнений лучевого лечения больных злокачественными новообразованиями Ростов-на-Дону, 1985, - С. 13-19).

Лечение поздних лучевых повреждений представляет довольно трудную задачу, поэтому на сегодняшний день предложено много различных вариантов консервативной терапии, что является косвенным подтверждением актуальности проблемы.

С целью консервативного лечения постлучевых повреждений применяют супероксидисмутазу, обладающую антиоксидантным, антицитолитическим и противовоспалительным действием. Основным действующим веществом препарата является рекомбинантная супероксидисмутаза человека, получаемая по генно-инженерной технологии с использованием в качестве продуцента культуры дрожжей *Sacch cerevisiae* штамм Y2134. Данный фармпрепарат вводится трансвагинально или трансректально в зону интереса (дно язвы, участки наибольшего фиброза, устья мочеточников) под ультразвуковым контролем с использованием аппаратов Siemens Acuson X300 и В.К Megical 2102 EXL. Курс лечения составляет 3-6 инъекций через день каждые 3 месяца в течение 1 года с последующим решением о необходимости их продолжения (см. Жариков А.А., Трехов О.В., Пасов В.В. Лечение больных с поздними лучевыми повреждениями органов малого таза с применением малоинвазивной методики под контролем ультразвука / Онкология. Журнал им. П.А. Грехова, 2013, - №6, - С. 31-35).

Для осуществления данной методики необходимо располагать указанным оборудованием и достаточным опытом осуществления манипуляции. Помимо того, длительность лечебных мероприятий не обеспечивает их эффективность.

В результате проведенного лечения у 15% больных сократилась солевая инкрустация стенок мочевого пузыря, язвенные дефекты сократились на 34%, отек - на 47%, эрозии на 35,5% у 2 из 55 больных восстановилась проходимость мочеточников и функция почек.

Как еще один новый подход в лечении осложненных лучевых циститов предлагается использование препарата Гепон («Иммафирма», Россия) (см. Пасов В.В., Бардычев М.С., Терехов О.В. Новые подходы к лечению поздних лучевых повреждений мочевого пузыря у больных со злокачественными новообразованиями органов малого таза (В.В. Пасов) / Росс. онколог. журнал. - 2005, - №5, - С. 16-19). Данный фармпрепарат оказывает мощное иммуномодулирующее и противовирусное действие, вызывает продукцию альфа- и бета- интерферонов, мобилизует и активирует макрофаги, ограничивает выработку цитокинов воспаления (интерлейкины - ИЛ 1, 6, 8 и фактор некроза опухоли) стимулирует продукцию антител к различным антигенам инфекционной природы, повышает резистентность организма к инфекциям, вызванных бактериями, вирусами или грибами.

Данный препарат вводят внутрь мочевого пузыря, при этом содержимое флакона (2 мг) растворяют непосредственно перед введением в 5,0 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида (0,04% раствор гепона). Инсталляции проводят в течение 12-15 дней по 2 раза в сутки, затем переходят на однократное введение. Общее количество необходимых лечебных манипуляций авторами не указано. При этом язва мочевого пузыря сохраняется у всех больных, хотя и становится меньше по размеру и очищается от фибрина, но более чем у 70% больных сохраняются телеангиэктазии.

Несомненным отрицательным моментом рассмотренных вариантов лечения является необходимость многократных катетеризаций мочевого пузыря, что сопряжено с дополнительным травмированием и инфицированием слизистой уретры и мочевого пузыря. Это может усугубить течение лучевого цистита.

Техническим результатом предлагаемого способа является повышение эффективности лечения позднего лучевого цистита у онкологических больных и улучшение качества их жизни.

Технический результат достигается тем, что во все вершины ромба Михаэлиса вводят по 0,3 мл аутологичной дендритно-клеточной вакцины, полученной с использованием антигенов культуры HeLa, при этом суммарно количество дендритных клеток за одну процедуру составляет 5000000, с последующим повторением такого введения через каждые 2 недели, курс лечения составляет 5 процедур.

Способ осуществляется следующим образом.

Периферическую венозную кровь забирают в стерильные 50-мл пробирки, содержащие антикоагулянт (K_3 - ЭДТА) и разбавляют равным объемом питательной среды RPMI-1640 (Панэко, Россия). Затем 10 мл полученной суспензии наслаивают на 3 мл «Ficoll-Paque Premium» и центрифугируют в 15 мл стерильных пробирках при 1500 об/мин в течение 40 мин при комнатной температуре (см. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow // Scand J. Clin. Lab. Investig. - 1968. - Vol. 21 - Suppl. 97. p. 1-9).

После центрифугирования на дне пробирки остаются эритроциты и гранулоциты, а мононуклеарные клетки (МНК) - на границе раздела фаз. Прозрачный слой среды, расположенный непосредственно над опалесцирующим слоем, содержащим МНК, удаляют, а МНК собирают по всей площади сечения пробирки, добываясь очистки от других клеток.

Взвесь МНК вносят в стерильные 15 мл центрифужные пробирки, разбавляют 4-кратным избытком неполной питательной среды RPMI-1640 и тщательно ресуспендируют. Отмывают МНК в неполной питательной среде RPMI-1640 двукратным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин.

Затем проводят подсчет и оценку жизнеспособности МНК с помощью камеры

Горяева и 0,4% трипанового синего, получают $3,5-7 \times 10^6$ и более клеток с жизнеспособностью не менее 98%.

Для получения ДК из МНК периферической крови, последние помещают в неполную питательную среду RPMI-1640 (посевная доза $1,5 \times 10^6$ кл/мл) и 2 плоскодонных культуральных флакона 75 см² с вентилируемыми пробками для выращивания адгезионных культур. Инкубируют в условиях контролируемого 5% CO₂ и 98% влажности при 37°C в течение двух часов.

Затем среду RPMI-1640, содержащую не прикрепившиеся клетки (преимущественно лимфоциты) удаляют и повторно промывают оставшиеся на подложке клетки 4 мл среды RPMI-1640.

В культуральные флаконы добавляют 15 мл среды CellGroDC, ростовые факторы и факторы дифференцировки: GM-CSF (72 нг/мл) и IL-4 (20 нг/мл).

Культуральные флаконы инкубируют в CO₂-инкубаторе.

На 3-й и 5-й день культивирования добавляют свежую порцию GM-CSF (72 нг/мл) и IL-4 (20 нг/мл).

На 7-й день культивирования в каждый флакон добавляют ростовые факторы и факторы дифференцировки GM-CSF (72 нг/мл), IL-4 (20-45 нг/мл) и TNF-α (20 нг/мл), а также клеточный лизат культуры клеток HeLa из расчета 3 клетки культуры HeLa на 1 дендритную клетку.

Для приготовления лизата, содержащего антигены культуры HeLa, клетки культивируют во флаконах в полной питательной среде DMEM/F12 с 10% телячьей эмбриональной сывороткой с добавлением глутамина и гентамицина (50 мкг/мл) в условиях контролируемого 5% CO₂ и 98% влажности при 37°C.

После достижения конфлюэнтного монослоя производят пересев клеток и дальнейшее культивирование в течение недели.

После получения достаточного количества клеточной массы из флаконов отбирают культуральную среду, снимают клетки культуры HeLa с подложки с помощью раствора трипсин-Версена и ресуспендируют до получения однородной клеточной суспензии.

Проводят подсчет клеток в камере Горяева и определяют процент жизнеспособных клеток по окрашиванию с 0,4% трипановым синим.

Для получения клеточного лизата выполняют шесть последовательных циклов моментального замораживания суспензии клеток в жидком азоте и оттаивания до комнатной температуры в фосфатно-солевом буфере без криопротектора (качество лизиса клеток контролировали с помощью 0,4% трипанового синего).

В дальнейшем клеточный детрит осаждают центрифугированием (10 мин, 3000 об/мин, 20°C) и фильтруют супернатант через стерильный фильтр (диаметр пор 0,2 мкм).

Опухолевый лизат, полученный из культуры HeLa, хранят при -20°C до использования.

Спустя 48 часов после добавления лизата культуры HeLa отбирают культуральную среду, центрифугируют, удаляют надосадочную жидкость. В каждый флакон добавляют 3 мл раствора трипсин-Версена и инкубируют в CO₂-инкубаторе в течение 5 мин.

Затем снимают клетки скрепером, осаждают центрифугированием (10 мин, 1000 об/мин, 20°C), удаляют супернатант. Объединяют клетки из двух флаконов с полученными клетками из надосадочной жидкости путем их ресуспендирования в неполной среде RPMI 1640 (конечный объем 10 мл).

Отбирают аликвоту клеточной суспензии, равную, 0,1 мл и проводят подсчет клеток в камере Горяева и определяют процент жизнеспособных клеток с помощью

окрашивания 0,4% трипановым синим.

Затем отбирают 200000 клеток для определения иммунофенотипа зрелых ДК на проточном цитометре, которое проводят путем выделения на графиках популяции МНК-ДК и очистки ее от дебриса и лимфоцитов с помощью меток CD45, CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD19.

Оценка стадии созревания моноклеаров производят с помощью антител к CD1a, CD11c, CD14, CD33, CD38, CD83, CD86, HLA-DR.

Необходимое количество клеток дендритной вакцины осаждают центрифугированием, отмывают в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия, содержащего 10% альбумина человека, производят подсчет и оценку жизнеспособности с помощью автоматического счетчика клеток «Countess» и 0,4% трипанового синего.

При соблюдении вышеуказанных условий получают клетки с жизнеспособностью не менее 98% и иммунофенотипом зрелых ДК (CD14-, CD1alow, CD83high, HLA-DRhigh, CD80high, CD86high, CCR7high).

Для введения ДК вакцины $1/2$ клеток (от 5 до 10×10^6), ресуспендированных в 1,5 мл 0,9% изотонического раствора NaCl, содержащего 10% альбумина человека, переносят в ампулу и доставляют в клиническое отделение для введения больному.

Другую $1/2$ ДК криоконсервируют и хранят в жидком азоте до следующей вакцинации.

В условиях процедурного кабинета гинекологического отделения, после обработки кожи крестцовой области раствором антисептика: в вершины ромба Михаэлиса (4 точки) вводят по 0,3 мл аутологичной дендритно-клеточной вакцины (суммарно 5000000 дендритных клеток на одно введение).

Визуально наблюдается реакция в виде образования папул, незначительной гиперемии в месте введения препарата. Отмечается субфебрильная температура тела в течение двух-трех суток после введения вакцины.

Аллергических реакций, как и других серьезных нежелательных побочных явлений, не зафиксировано.

Через каждые 2 недели повторяют такое введение. Курс лечения составляет 5 процедур.

Всего за 5 процедур вакционотерапии больные получают 25000000 клеток.

Контрольную ретроспективную группу составили 12 больных раком шейки и тела матки, подвергавшиеся химиолучевой терапии и имевшие лучевое повреждение мочевого пузыря.

Данные пациентки получили в среднем по 20 внутривезикулярных введений лекарственных противовоспалительных и регенерирующих препаратов с использованием 10% лимексида, инсталляций жировых масляных и растительных средств. Дополнительно проведено 7 превезикальных блокад по способу Задерин В.П. и Поляничко М.Ф.

В наблюдаемую группу вошли 14 женщин с онкогинекологической патологией, которые имели часто рецидивирующее лучевое повреждение мочевого пузыря с практически исчерпанными возможностями его лечения.

В таблице №1 представлены сравнительные сведения об эффективности стандартного и предлагаемых вариантов лечения поздних лучевых повреждений мочевого пузыря

Таблица 1

Цистоскопические признаки лучевых повреждений в группах

Анализируемые признаки	Контрольная группа, n=12		Наблюдаемая группа, n= 14	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Гиперемия и отек слизистой	12	4 (40%)*	14	1 (7,1%)
Эрозии слизистой	3	1 (33,3%)	3	- 0%
Изъязвления	6	3 (50%)*	11	2 (18,2%)
Телеангиэктазии	10	7 (70%)*	14	3 (21,4%)
Атрофия слизистой	8	8 (100%)	14	14(100%)

Примечание: * - достоверно при $p < 0,05$ между сравниваемыми группами.

По представленным результатам лечения очевидны преимущества предлагаемого способа лечения.

Так при использовании дентритных клеток гиперемия и отек слизистой мочевого пузыря полностью исчезли у 5, 7 раз большего числа больных (7,1% против 40% - $p < 0,05$) по сравнению с пациентами, получавших консервативные стандарты лечения.

Очевидно направленное регенерирующее воздействие дентритных клеток на стенку сосудов. Так, эрозии слизистой, язвенные дефекты и телеангиэктазии при проведении терапии дентритными клетками купировались соответственно в 100%, 81,8% и 78,6% случаях наблюдения. В контроле только соответственно в 66,7%, 50% и 30% случаях ($p < 0,05$).

Клинический пример №1.

Больная К., 1978 г.р., находится под наблюдением ФГБУ РНИОИ МЗ РФ с 2014 года с диагнозом рак шейки матки T_{2a}N_xM₀ гр 2, смешанная форма, влагиалищный вариант. Г/а №81073-74: умеренно-низкодифференцированный плоскоклеточный рак.

Из анамнеза: считает себя больной с мая 2014 г., когда появились контактные кровомазания из влагиалища. Обратилась к онкологу по месту жительства в октябре 2014 г. Взяты мазки с шейки матки. Ц/а: аденокарцинома. Направлена в РНИОИ, где проведено комплексное лечение.

13.11-14.11.2014 проведен неоадьювантный курс полихимиотерапии (ПХТ): 180 мг цисплатина, и 60 мг блеоцина. Хороший клинический эффект.

05.12.2014 выполнена операция - нервосберегающая экстирпация матки с придатками с верхней третью влагиалища и тазовой лимфаденэктомией.

ГА №1: умереннодифференцированный плоскоклеточный рак без ороговения с инвазией 4,5 мм, выраженной лимфоцитарной инфильтрацией, №2: линия резекции имеет обычное строение, №3: железистый полип с кистозным расширением просвета желез, №4: лейомиома, диффузный эндометриоз, №5: маточные трубы имеют обычное строение, в яичниках - фолликулярные кисты, желтые тела, эндометриоидные кисты, №6: в лимфоузлах - синусовый гистиоцитоз, отложение гомогенных эозинофильных масс.

12.12-15.12.2014 г. проведен первый курс адьювантной ПХТ: введено 150 мг цисплатина, 60 мг блеоцина.

С 15.01.2015 г. по 18.02.2015 г. в отделении радиологии РНИОИ проведен курс

адьювантного сочетанного лучевого лечения. Наружное облучение ложа первичной опухоли и зон регионарного метастазирования проведено на аппарате «Theraton» в статическом режиме и в режиме двухсекторного качания разовой очаговой дозой 2 Гр (РОД) до суммарной очаговой дозы СОД 40 Гр (66 Ед ВДФ).

5 В чередовании в наружном облучением на стенки культы влагалища и послеоперационный рубец на аппарате «Multisource HDR» проведен курс эндовагинальной брахитерапии РОД 5 и 7 Гр, до СОД 41 Гр по изоэффекту (62 Ед ВДФ). Курс сочетанного лучевого лечения перенесла удовлетворительно, без явлений местных и общих лучевых реакций и осложнений.

10 По рекомендации химиотерапевта в период с 27.03.15 по 22.04.15 проведено еще 2 адьювантных курса ПХТ по схеме: 150 мг цисплатин, 60 мг блеоцина.

Обратилась в КДО РНИОИ в 2016 с жалобами на частое (до 20 раз в сутки) болезненное (с сильными резами, «до слез») мочеиспускание, примесь крови в моче, сухость, дискомфорт во влагалище.

15 Со слов больной дизурические явления беспокоят с октября 2015 года. Самолечение без эффекта. По представленным выпискам с места жительства проводилось противовоспалительное лечение с использованием антибиотиков, уросептиков, инсталляций в мочевой пузырь раствора димексида, фибролизующих средств, жировых и растительных препаратов. Проведено 7 превезикальных блокад с введением 0,5% новокаина, 0,25% - метилурацила, витамина В12, гидрокортизона и гентамицина.

20 Обследована в КДО ФГБУ РНИОИ МЗ РФ.

St. genitalis: наружные половые органы макроскопически без патологии. Нижняя и средняя трети влагалища визуально не изменены. Слизистая передней стенки верхней трети влагалища умеренно гиперемирована, незначительная отечность. На месте матки и придатков свободно. В параметриях с обеих сторон рубцовая тяжистость.

25 ЦА №1 от 21.03.16 (мазки с рубца влагалища) эпителий на фоне активации хронического неспецифического гранулематозного воспаления, опухолевые клетки не обнаружены.

УЗИ органов малого таза от 21.03.2016: матка с придатками удалены, данных за асцит нет. Культы влагалища с неровными, нечеткими контурами, узловые субстраты и патологический кровоток не регистрируются, рецидива в малом тазу не выявлено. В заднем своде уплотненный, умеренно инфильтрированный фрагмент кишечника. Форма мочевого пузыря правильная, стенка инфильтрирована уплотнена до 6-7 мм, содержимое гомогенное. Заключение: спаечно-инфильтративный - постлучевой процесс малого таза, цистит.

35 СРКТ органов грудной клетки, брюшной полости 21.03.2016: забрюшинные, внутригрудные лимфоузлы не увеличены, легочная ткань, печень, селезенка без очаговых изменений, плеврита, асцита нет, брюшина, плевра не изменены.

МРТ органов малого таза 22.03.2016: стенки прямой и сигмовидной кишки - четко визуализируется, отек слизистой оболочки, дифференцировка слоев сохранена, признаков ограничения диффузии нет. Стенки мочевого пузыря утолщены до 9 мм, объем мочевого пузыря уменьшен. В полости малого таза объемные патологические образования не определяются, данных за рецидив нет, данных за расширение мочеточников нет. В параметриях постлучевой фиброз. Заключение: цистит, ректосигмоидит.

45 Цистоскопия от 22.03.2016: уретра проходима, уменьшение емкости мочевого пузыря. На фоне воспаленной ярко гиперемированной бархатистого вида слизистой оболочке мочевого пузыря визуализируются телеангиэктазии, точечные кровоизлияния, местами обнаруживаются единичные мелкие участки изъязвления слизистой. Устья мочеточников

щелевидные, расположены в типичных местах. Опухоли мочевого пузыря не выявлено. Заключение: картина соответствует катаральной с телеангиэктазиями форме лучевого повреждения мочевого пузыря.

Фиброколоноскопия 23.03.2016: выраженная гиперемия, отечность и контактная кровоточивость слизистой оболочки сигмовидной и прямой кишки. Опухоли толстой кишки не выявлено. Заключение: картина соответствует катаральной форме лучевого колита.

Результаты лабораторных анализов:

ОАК от 21.03.2016: гемоглобин = 104 г/л, эритроциты = $3,55 \times 10^{12}$ /л, ЦП = 0,88, лейкоциты = $8,35 \times 10^9$ /л, СОЭ = 60 мм/час, палочкоядерные = 14%, сегментоядерные = 53%, эозинофилы = 2%, базофилы = 0%, моноциты = 6%, лимфоциты = 25%, тромбоциты = 263×10^9 /л.

Биохимический анализ крови от 21.03.2016: общий билирубин 8,5 ммоль/л; АЛТ = 51,38 Ед/л; АСТ = 34,44 Ед/л; креатинин = 93,7 мкмоль/л; глюкоза = 5,12 ммоль/л, СРБ = 25,3 мг/л, общий белок = 58 г/л; мочевины = 8,73 ммоль/л.

ОАМ от 21.03.2016: плотность 1010; белок 0,033 г/л, цвет темно-желтый, эритроциты 22-24-26 в поле зрения (неизмененные), лейкоциты густо, более 100 в поле зрения, эпителий 4-4-5, солей нет.

Диагноз: рак шейки матки рT_{2a}N₀M₀ гр 2, смешанная форма, влагиалищный вариант, состояние после курса комплексного лечения неoadъювантной химиотерапии, радикального хирургического лечения, сочетанной лучевой терапии и 3 адъювантных курсов ПХТ. Осложнения основного заболевания: лучевой катаральный цистит,

Консилиумом РНИОИ в составе онкогинеколога, радиолога и химиотерапевта решено провести специфическую иммунотерапию: введение аутологичной дендритно-клеточной вакцины №5 по 5000000 клеток через каждые 2 недели, в суммарной дозе 25000000 дендритных клеток.

На внедрение нового варианта лечения получено разрешение этического комитета РНИОИ. Больная детально информирована о способе, особенностях и возможных осложнениях предстоящего лечения. Получено информированное добровольное согласие больной на медицинское вмешательство.

31.03.2016 г. введена первая дендритно-клеточная вакцина: в условиях процедурного кабинета гинекологического отделения, после обработки кожи крестцовой области раствором антисептика, в зону ромба Михаэлиса введена аутологичная дендритно-клеточная вакцина: в вершины ромба в 4 точки введено по 0,3 мл аутологичной дендритно-клеточной вакцины (суммарно 5000000 дендритных клеток). Визуально реакции в виде папулы, гиперемия незначительная в месте введения препарата. Отмечено повышение температуры тела до 37,8° в течение двух суток после введения вакцины. Аллергических реакций, как и других нежелательных побочных явлений, не зафиксировано.

Через 2 недели после введения первой дендритно-клеточной вакцины (14.04.2016 г.) введена вторая дендритно-клеточная вакцина (введено 500000 дендритных клеток). Реакция в виде гипертермии до 38,2° в течение 2 суток после вакцинотерапии

Клинически - значительное уменьшение частоты мочеиспускания (до 7 раз в сутки), исчезновение примесей крови в моче. Изредка рези при мочеиспускании.

28.04.2016 введена третья дендритно-клеточная вакцина (введено 5000000 дендритных клеток).

12.05.2016 введена четвертая дендритно-клеточная вакцина (введено 5000000

дендритных клеток).

26.05.2016 введена пятая дендритно-клеточная вакцина (введено 5000000 дендритных клеток).

Серьезных нежелательных явлений не зафиксировано.

5 Суммарно за 5 процедур больная получила 25000000 дендритных клеток.

При контрольном обследовании в июне 2016 г. больная субъективно отмечает значительные положительные изменения в общем состоянии. Перестали беспокоить боли внизу живота, нет резей при мочеиспускании. В моче патологических примесей нет. Мочеиспускание 4-5 раз в день, свободное, безболезненное, нет дискомфорта и
10 более во влагалище, выделения слизистые (в том числе при половом акте).

St. genitalis: наружные половые органы макроскопически без особенностей, стенки влагалища на всем протяжении бледно-розового цвета, без патологических элементов, влагалищный рубец сформирован, некроза, гиперемии нет. Выделения слизистые.

Пальпаторно стенки влагалища эластичные, влагалищный рубец не отечный, гладкий,
15 в полости малого таза патологических объемных образований не выявлено, инфильтрации нет.

При цитологическом исследовании мазков с рубца влагалища №6517-18/16: в мазках клетки плоского эпителия. Патологические изменения, в том числе атипичные клетки, не обнаружены.

20 УЗИ органов малого таза 28.06.2016 г.: данных за асцит нет, матка с придатками удалены, в их проекции патологических образований нет, культи влагалища с ровными, четкими контурами, узловые субстраты и патологический кровоток не регистрируются, рецидива в малом тазу не выявлено, эхо-графически патологии мочевого пузыря не выявлено.

25 СРКТ органов грудной клетки, брюшной полости 28.06.2016 г.: забрюшинные, внутригрудные лимфоузлы не увеличены, легочная ткань, печень, селезенка без очаговых изменений, плеврита, асцита нет, брюшина, плевра не изменены.

МРТ органов малого таза 29.06.2016 г.: стенки прямой и сигмовидной кишки - дифференцировка слоев сохранена, отек слизистой не выявлена, признаков ограничения
30 диффузии нет. Стенки мочевого пузыря 3 мм, объем мочевого пузыря 170 мл; в полости малого таза объемные патологические образования не определяются, данных за рецидив нет, данных за расширение мочеточников нет, в параметриях инфильтратов нет. Заключение: состояние после комплексного лечения рака шейки матки, патологических изменений не выявлено.

35 Цистоскопия 29.06.2016 г.: уретра проходима, емкость мочевого пузыря 200 мл, устья щелевидные расположены в типичных местах. Слизистая мочевого пузыря обычной окраски и структуры, единичные точечные телеангиэктазии. Патологических изменений слизистой мочевого пузыря не выявлено.

40 Фиброколоноскопия 30.06.2016 г.: патологических изменений слизистой толстой кишки не выявлено.

Результаты лабораторных анализов:

ОАК от 28.06.2016: гемоглобин = 128 г/л, эритроциты = $3,94 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты = $7,4 \times 10^9$ /л, СОЭ = 25 мм/час, палочкоядерные = 12%, сегментоядерные = 51%, эозинофилы
45 = 2%, базофилы = 0%, моноциты = 7%, лимфоциты = 28%, тромбоциты = 245×10^9 /л.

Биохимический анализ крови от 28.06.2015: общий билирубин 8,5 ммоль/л; АЛТ = 41,7 Ед/л; АСТ = 40,6 Ед/л; креатинин = 80 мкмоль/л; глюкоза = 5,54 ммоль/л, СРБ = 4,8 мг/л, общий белок = 79,0 г/л; мочевины = 5,49 ммоль/л.

В ОАМ от 28.06.2016: плотность 1022; белок - нет, цвет соломенно-желтый, эритроцитов в поле зрения нет, лейкоциты 4-6-4 в поле зрения, эпителий 1-1-0, солей нет.

Консилиумом КДО ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ вынесено решение о прекращении циклов специфической иммунотерапии в связи с купированием явлений лучевых повреждений, рекомендовано диспансерное наблюдение.

Разработанный способ обладает изобретательским уровнем, так как явным образом не следует для специалиста из известного уровня развития медицины и дает возможность провести лечение лучевых повреждений мочевого пузыря. В известных источниках информации России, стран СНГ и за рубежом подобный способ не обнаружен.

(57) Формула изобретения

Способ лечения лучевых повреждений мочевого пузыря, заключающийся в том, что во все вершины ромба Михаэлиса вводят по 0,3 мл аутологичной дендритно-клеточной вакцины, полученной с использованием антигенов культуры HeLa, при этом суммарно количество дендритных клеток за одну процедуру составляет 5000000, с последующим повторением такого введения через каждые 2 недели, курс лечения составляет 5 процедур.