

**АНАЛИЗ ОТДАЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ
ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМАМИ**

Жукова Т.В.¹, Дедковский А.А.¹, Борисейко А.В.², Смеянович А.Ф.², Воробьева О.М.³,
Зрелов А.А.³, Забродская Ю.М.³

¹*Международный университет МИТСО, ул. Казинца, 21, к.5, Минск, Беларусь*

²*РНПЦ неврологии и нейрохирургии, ул. Франциска Скорины, д. 24 Минск, Беларусь*

³*Российский научно-исследовательский институт им. проф. А.Л. Поленова – филиал
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ России, ул. Маяковского, д.12., Санкт-Петербург,
Россия*

В статье представлены результаты лечения 24 пациентов с глиобластомой при помощи противовирусной терапии. Проведение противовирусной терапии в комбинации с метронидазолом в дополнение к стандартному комплексному лечению увеличило период выживаемости без прогрессии онкологического процесса у пациентов с глиобластомой в 2,82 раза и составил 17,2(11,2;26,3) месяцев, в отличие от контрольной - 6,1 (3,2;6,5) месяцев. На фоне указанной методики лечения каждый четвертый пациент достиг пятилетней выживаемости. Нечувствительность к данному виду лечению отмечена у 30% пациентов, прогрессирование опухолевого процесса наступило через 6-9 месяцев. Работы над созданием клеточных технологий с применением вирусного генома, может быть перспективным в продлении жизни пациентов с высокозлокачественными глиомами.

Ключевые слова: глиобластома, простой вирус герпеса, противовирусная терапия, выживаемость.

**ANALYSIS OF LONG-TERM RESULTS OF ANTIVIRAL THERAPY IN PATIENTS
WITH GLIOBLASTOMAS**

Zhukova T. V.¹, 1 Dudkowskii A. A.¹, Boriseyko A. V.², Smeyanovich A. F.², Vorobeva
O. M.³, Zrelov, A. A.³, Zabrodskaya Yu. M.³.

International University MITSO

RSPC of neurology and neurosurgery, Franziska Skorina St.

Russian research Institute named after Prof. A. L. Polenov

The article presents the results of treatment of 24 patients with glioblastoma using antiviral therapy. Antiviral therapy in combination with metronidazole in addition to standard complex treatment increased the survival period without progression of the cancer process in patients with glioblastoma by 2.82 times and amounted to 17.2(11.2;26.3) months, in contrast to the control - 6.1 (3.2;6.5) months. Against the background of this treatment method, one in four patients achieved a five-year survival rate. Insensitivity to this type of treatment was noted in 30% of patients, the progression of the tumor process occurred after 6-9 months. Work on the creation of cellular technologies using the viral genome may be promising in extending the life of patients with high-grade gliomas.

Key words: glioblastoma, herpes simplex virus, antiviral therapy, survival rate.

Введение

Во всех экономически развитых странах, количество пациентов со злокачественными новообразованиями растет. Тенденция роста наблюдается и среди нейроонкологических пациентов. За последние 35 лет их число увеличилось в 2 раза. По данным различных источников, глиальные опухоли составили 60% всех оперированных опухолей центральной нервной системы (ЦНС) [1, 2]. Общая стратегия роста глиальных опухолей заключается в каскадности изменений биологического поведения опухолевых клеток и эндотелия сосудов, происходящих во время прогрессирования опухолевого процесса с учетом опухолевой трансформации [2]. Для высокозлокачественных глиальных опухолей характерен этапный рост. Скорость роста определяет соотношение ростовых факторов, к которым относятся прежде всего соотношение апоптозного p53 и антиапоптозного фактора bcl-2, индекс пролиферативной активности, а также количество сосудов в наиболее васкуляризированной точке. Установлено, что величина перечисленных показателей выше для глиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса (ВПГ), формирующихся на фоне обострения хронического воспаления, вызванного данным вирусом. [3].

Воспаление в опухолевой ткани является пусковым механизмом пролиферативных процессов [1]. Среди агентов, вызывающих воспалительные изменения в организме человека и трансформирующих клетки *in vitro*, выделяют 6 семейств ДНК-содержащих (паповавирусы, гепадновирусы, аденовирусы, поксвирусы, папилломавирусы и герпесвирусы) и одно семейство РНК-содержащих (ретровирусы) вирусов. Необходимо отметить, что герпесвирусы крайне широко распространены среди населения. Вирус простого герпеса (ВПГ-1, ВПГ-2) обнаруживается, согласно глобальным оценкам ВОЗ, у 70% населения в возрасте до 50 лет. Вирус простого герпеса (ВПГ) является главным после вируса иммунодефицита вирусным патогеном человека. В нервных тканях ВПГ может переходить в латентное состояние. С состоянием латенции связывают дестабилизацию клеточного генома: повышение частоты разрывов хромосом и мутации, в том числе и такие, которые затрагивают гены, участвующие в канцерогенезе. [2, 3]. Это ведёт к ускоренной гибели клеток.

Предполагается, что этот процесс какое-то время нивелируется (при этом высокая степень клеточной смерти компенсирована) увеличением пролиферации клеток [4, 5].

Регулятором движения по клеточному циклу является транскрипционный активатор – белок p53, уровень активности которого значительно повышается в условиях повреждения клеточной ДНК. [1, 3, 4]. В случае действия ДНК повреждающих агентов, которыми могут быть, в первую очередь, вирусы, усиливается экспрессия проапоптотического белка Вах, образующего гетеродимеры с bcl-2. Цитотоксические Т-лимфоциты служат главным фактором в иммунном контроле вирусных инфекций. Их типичным признаком является наличие поверхностного антигена CD8 [2, 5, 6]. Понятно, что быстро растущая опухоль нуждается в питании, поэтому увеличение количества сосудов также является прогностическим фактором, благодаря которому можно судить о ее биологическом поведении [1, 2, 5].

Приобретение способности избегать апоптоз является основной из особенностей раковых клеток, которая обеспечивается функционированием гена bcl-2, а также утратой активности проапоптотического регулятора гена p53, способного индуцировать синтез генов группы Вах, как продуктов апоптоза [7]. Противоопухолевая активность апоптотических клеток связана с тем, что на их наружной мембране появляются биологически активные маркеры, узнаваемые иммунологически компетентными клетками, обладающими противоопухолевой активностью [4, 8, 9]. Известно, что апоптотические клетки, в противовес погибающим от цитолиза, осуществляют презентацию онкогенов,

что также может способствовать развитию иммунологического ответа, приводящего к их элиминации [5]. В связи с этим, в последние годы стратегия активации апоптоза и ингибирование антиапоптотических белков семейства bcl-2, является одной из основных при разработке противовирусных препаратов. К сожалению, до настоящего времени в клинической практике такие препараты отсутствуют [6, 10, 11, 12].

При проведении исследования, посвященного механизмам роста глиальных опухолей, был предложен метод применения этиопатогенетического противовирусного лечения пациентов в раннем послеоперационном периоде. Метод был основан на обнаружении наличия контаминации высокозлокачественных глиом ВПГ и применении противовирусного лечения с целью увеличения периода выживаемости без прогрессирования. Проведенные в Республике Беларусь и в России исследования выявили, что основная роль в опухолевом росте глиальных опухолей принадлежит вирусу простого герпеса I и II типа [3, 4].

В специальной литературе высказывается мнение относительно экспериментальности подходов подобного рода. В этой связи необходимо отметить, что в соответствии со ст. 18 (Методы оказания медицинской помощи) закона Республики Беларусь «О здравоохранении» (далее – Закона) при оказании медицинской помощи применяются методы, утвержденные Министерством здравоохранения (далее – МЗ) Республики Беларусь. Рассматриваемая бланкетная правовая норма отсылает к инструкции по применению метода лечения нейроэпителиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса, противовирусными лекарственными средствами в комбинации с метронидазолом в раннем послеоперационном периоде, утвержденной приказом МЗ Республики Беларусь.

Таким образом, предлагаемая методика противовирусного лечения не является экспериментом, так как имеет соответствующее правовое регулирование и основана на методах, утвержденных МЗ.

Учитывая сложность медицинского вмешательства, связанного с хирургическим отбором биопсийного материала для гистологического исследования, в силу ст. 44 (Согласие на оказание медицинской помощи) Закона РБ необходимым условием оказания медицинской помощи пациенту является наличие предварительного согласия совершеннолетнего пациента или лиц, указанных в части второй ст. 18 Закона РБ, выразившееся в письменной форме.

Статья 46 (Предоставление информации о состоянии здоровья пациента. Врачебная тайна) Закона РБ закрепляет, что использование информации о состоянии здоровья

пациента в образовательном процессе и научной литературе допускается только с согласия пациента либо лиц, указанных в части второй ст. 18 Закона РФ.

Материалы и методы

В проводимое нами исследование вовлечены 24 пациента с глиобластомой, с каждым из которых заключено доверительное соглашение об использовании результатов исследования в научных целях, одобренное этической комиссией РНПЦ неврологии и нейрохирургии. Вместе с тем, по-нашему мнению, не противоречат закону случаи, когда при отсутствии согласия пациента, в специальной литературе, в ходе научно-практических конференций, других научных мероприятий используется информация о заболеваниях, методах и результатах лечения способом, не позволяющим идентифицировать конкретную личность.

Метронидазол относится к группе имидазольных соединений с широким спектром антимикробной активности. Механизм его действия связан с интеркаляцией ДНК, что было использовано для направленного действия противовирусного препарата и усиления его эффективности при взаимодействии с вирусными микро-РНК. Сущность способа послеоперационного лечения глиобластомы заключается в назначении Ацикловира либо его производных (2000 мг/сут) в сочетании с Метронидазолом (1000 мг/сут) курсом в 14 дней. Данная методика является дополнением к стандартному комплексному лечению, включающему хирургическое вмешательство и химиолучевую терапию. После проведения операции по поводу удаления опухоли проводится гистологическое и иммуногистохимическое исследование. При выявлении контаминации опухоли ВПГ назначается противовирусное лечение по вышеописанной схеме под контролем биохимических анализов. Курс лечения повторяется по результатам нейровизуализационного контроля. Противовирусное лечение проводилось 24 (12 женщин, 12 мужчин) пациентам с глиобластомой, прооперированным в РНПЦ неврологии и нейрохирургии в 2013г, а также в Российском научно-исследовательском институте имени профессора А.Л. Поленова – филиале федерального государственного бюджетного учреждения «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова». Министерства здравоохранения Российской Федерации. Контрольную группу составили также 24 пациента с глиобластомами не проходившими дополнительную противовирусную терапию (12 женщин, 12 мужчин). Все пациенты прошли комплексное лечение. Гистологический диагноз в каждом конкретном случае верифицирован двумя специалистами-патологоанатомами. Средний возраст в исследовательской группе составил 42,3 (28,6;51,2) года, в контрольной 45,2(28,9;54,5) лет. Во всех случаях исследовательской и контрольной групп опухоль удалялась субтотально. Пациенты исследовательской группы получали лечение ацикловиром в комбинации с метронидазолом по утвержденной схеме. Лечение начато в 2013г. Цели и задачи

Целью исследования стала оценка результатов эффективности лечения пациентов с глиобластомой в послеоперационном периоде с применением противовирусной терапии ацикловиром или его производными в сочетании с метронидазолом.

Результаты и обсуждение

В результате работы показатель выживаемости без прогрессии в исследуемой группе составил 17,2(11,2;26,3) месяцев, в контрольной - 6,1 (3,2;6,5) месяцев. За период с 2013г по 2018г среди пациентов исследуемой группы выжили 6 человек (5-летняя выживаемость 25%). Из них четверо женщин и двое мужчин. У 3 женщин было проведено по одной операции по поводу прогрессирования. У одной женщины и двух мужчин была отмечена стабилизация опухолевого процесса. У одного из пациентов до применения противовирусного лечения в 2013г. было проведено 3 оперативных вмешательства. Первый рецидив наступил через 9 месяцев на фоне проведенной химиолучевой терапии, два последующих наступили через 6 месяцев каждый. В дальнейшем, после третьей операции и проведенного противовирусного лечения на протяжении 5 лет у пациента установлена стабилизация опухолевого процесса. Проведенный анализ клинических наблюдений показал, что длительность безрецидивного периода увеличилась на 64,6%, что отображено в таблице 1.

Таблица 1

Выживаемость пациентов с глиобластомой, проходивших лечение ацикловиром в комбинации с метронидазолом и без антивирусного лечения

Группы	пол	Возраст (лет)	локализация	Радикальность операции	безрецидивная выживаемость
Антивирусное лечение (8 РБ, 4 РФ) (9 РБ, 3 РФ	12ж 12м	42,3 (28,6;51,2)	височно- теменная	Субтотальное удаление	17,2(11,2;26,3) месяцев
Контроль (без антивирусного лечения) РБ 12 РФ 12	12ж 12м	45,2 (28,9;54,5)	височно- теменная	Субтотальное удаление	6,1 (3,2;6,5) месяцев

Общая выживаемость до 1 года в группе пациентов, получавших противовирусное лечение в комбинации с метронидазолом в раннем послеоперационном периоде, составила 95,8%, в контрольной группе 43,5%. Полученные результаты комплексного лечения

пациентов с глиобластомами показали достоверное улучшение однолетней выживаемости в этой группе.

Показатель пятилетней выживаемости 25%, полученный при проведении противовирусной терапии в комбинации с метронидазолом для пациентов с глиобластомой уникален. В исследовательской группе выжил каждый четвертый пациент, что для данной патологии является серьезным прорывом. Клиническое состояние пациентов, переживших пятилетний рубеж, удовлетворительное. Трое пациентов продолжают выполнять объем физической и интеллектуальной работы, который они выполняли до проведенных операций, т.е. остались на своих рабочих местах, занимаемых до болезни. Один из пациентов снят с учета по прошествии пяти лет. По данным статистического отчета CBTRUS (CentralBrainTumorRegistryoftheUnitedStates) за 2011-2015 гг., опубликованного в 2018г., показатель пятилетней выживаемости пациентов с глиобластомой в возрастной категории 40+ составил 4,3%. [4].

Тем не менее, при проведении противовирусного лечения у пациентов с глиомами была выделена группа, не чувствительная к данному виду лечению. Группа составила 30% пациентов, у которых прогрессирование процесса наступило через 6-9 месяцев, несмотря на проводимое противовирусное лечение в комбинации с метронидазолом.

С нашей точки зрения, продолжение работы над созданием клеточных технологий с применением вирусного генома, в частности ВБН, может быть перспективным в продлении жизни пациентов с высокозлокачественными глиомами. Установленная нами способность повышения уровня апоптоза, как фактора противостоящего митотической активности при повышении протеолитических свойств сред культивирования *in vitro*, позволяет предположить возможность такого подхода при терапии злокачественных глиом *in vivo*, как наиболее терапевтически резистентных опухолей.

Заключение. Проведение противовирусной терапии в комбинации с метронидазолом в дополнение к стандартному комплексному лечению увеличивает период выживаемости без прогрессии у пациентов с глиобластомой в 2,82 раза, каждый четвертый пациент достигает пятилетней выживаемости. Предложенный метод является достаточно эффективным и безопасным, однако имеет индивидуальную чувствительность и требует дальнейшего углубленного изучения.

Литература

1. Ананьева, И. И. Глиальные опухоли головного мозга: современные аспекты классификации и основы генетической предрасположенности / И. И. Ананьева, М. С. Малкаров, А. С. Корсакова // Архив патологии. – 2007. – № 2. – С. 54–60.

2. Давыдов, М. И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007г. / М. И. Давыдов, Е. М. Аксель // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2009. – Т.20, №3(77). – Прил.1. – 158 с.

3. Жукова, Т. В. Клинические и морфологические особенности роста высокозлокачественных нейроэпителиальных опухолей, контаминированных вирусом простого герпеса / Т. В. Жукова, А.Ф. Смеянович, М.К. Недзьведь, С.Д. Безубик, А.И. Ахремчук, А.А. Ширинский, С.И. Мельников // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2013. – №4. – С.21-24.

4. Калинин, В. Л. Введение в молекулярную вирусологию. – СПб.: СПбГТУ, 2002. – 284 с.

5. Quinn T. Ostrom. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011–2015 / Haley Gittleman, Gabrielle Truitt, Alexander Boscia, Carol Kruchko and Jill S. Barnholtz-Sloan // Neuro-Oncology, Vol 20, Issue suppl_4, October 2018, P.77

6. Chiocca A. Therapy of angiostatin / Antonio Chiocca, Khalid M. Abbed, Stephen Tatter, N.David // Center for Molecular Medicine. - 2008. - №. 3 – P.286- 291.

7. Вересов, В.Г. Структурная биология апоптоза. – Минск «Белорусская наука», 2008. – 397 с.

8. Кешелева, В.В. Неадьювантная терапия рака молочной железы с применением онкологического вируса болезни Ньюкастла/В.В. Кешелева [и др.]// Вопросы онкологии. – 2009. – Т.55, №4. – С.433 – 435.

9. Ahlert, T. Tumor – cell number viability as qualiru and efficacy parameters of autologous virus-modified cancer vaccines with breast or ovarian cancer/ T. Ahlert [at al.]// Clin.oncol. – 1997. – Vol.15, №4.–P. 1354–1366.

10. Хмара, М.Е. Молекулярные аспекты вирусиндуцированного канцерогенеза и терапии новообразований/М.Е. Хмара, Т.В. Жукова, В. Г. Гудков//Медицинские новости. – 2015. – №12. – С. 14-17.

11. Votyakov, V.I. Antiviral and Physico-chemical Properties of Macromolecular Complex Isolated from the Virus – Infected Cell Extract Treated with Ribonuclease/ V.I. Votyakov [at al.]//Contr.Oncol. – 1984 – Vol. 20 – P. 176-184.

12. Вотяков В.И. Ингибитор, обладающий противовирусной активностью и способ его получения/В.И. Войтяков, М.Е. Хмара, В.М. Ткач//Открытия, изобретения – 1983, №2. – С. 204.