

**D. IKIĆ, J. KRUŠIĆ, K. ČUPAK, E. ŠOOŠ, D. CAR, A. ROGULJIĆ,
V. JAKAŠA, D. JUŠIĆ I S. SMERDEL**

INTERFERON I NJEGOVA PRIMJENA S POSEBNIM OSVRTOM NA TUMORE

Interferon je jedan od medijatora celularne imunosti. Leukociti u kulturi produciraju niz tzv. medijatora celularne imunosti. Ti se medijatori u pravilu izlučuju kada stanice senzibiliziranog organizma dođu u dodir sa specifičnim senzibilizirajućim antigenom, a čini se da se luče i spontano u nekim fazama staničnog ciklusa. Medijatori celularne imunosti u živom organizmu vjerovatno uzrokuju sve manifestacije celularne imunosti, npr. celularnu otpornost na infekciju virusima, razaranje tumorskih stanica koje su nosioci tuđih antigena, odbacivanje transplantata i tkiva heterolognih davalaca, alergijske reakcije kasne preosjetljivosti i neke autoimune bolesti.

HLI se pripravlja u nekoliko zemalja u svijetu: u Finskoj, SSSR-u, Japanu i Jugoslaviji. U zagrebačkom Imunološkom zavodu HLI se pripravlja od 1970. godine isključivo za lokalnu primjenu u obliku masti, uljne suspenzije, praška, otopine za inhalaciju i otopine za supkutane i supkonjunktivalne injekcije.

U odnosu na parenteralnu, sistemsku primjenu, lokalna primjena interferona je jednostavnija. Za postizavanje odgovarajuće koncentracije potrebna je relativno mala količina aktivne supstancije, učinak liječenja može se bolje promatrati, a opasnost od eventualnih štetnih nuspojava daleko je manja.

Mi smo u Jugoslaviji usporedno s razvijanjem proizvodnje uspostavili zahtjeve koje preparat mora ispuniti prije puštanja u promet (Ikić i sur., 1975).

Aktivna nativna supstanca koju dobivamo stimulacijom humanih leukocita s virusom nosi radni naslov humani leukocitni interferon (HLI), i prema našem mišljenju u imunološkom pogledu nije homogena. Ono što danas najbolje poznamo to je antiviralna aktivnost interferona. To je vjerovatno samo jedna aktivna komponenta celularnih medijatora koju sadržava nativni preparat. U Imunološkom zavodu u toku su ispitivanja ostalih aktivnosti.

Kakva su klinička iskustva s interferonom i kod kojih je bolesti do sada primijenjen?

U okulistici interferon je primijenjen za liječenje epidemijskog keratokonjunktivitisa, zatim za liječenje blefarokonjunktivitisa i keratitisa uzrokovanog virusom vakcinije, te za prevenciju hospitalnog epidemijskog keratokonjunktivitisa (Ikić i sur., 1975). HLI je primijenjen u obliku jednokratne inhalacije za liječenje influence (Ikić i sur., 1975). Lokalno je primijenjen u djece s herpetičnim gingivostomatitisom (Ikić i sur., 1975) i u odraslih s aftoznim stomatitisom (Dobrenić i sur., 1975), te za liječenje komplikacija na koži i vidljivim sluznicama nakon cijepljenja protiv velikih boginja (Ikić i sur., 1975).

Nadalje, HLI je lokalno primijenjen u liječenju labijalnog herpesa, genitalnog herpesa (Ikić i sur., 1975), herpes zostera, ulcera cruris (Ikić i sur., 1975), benignih tumora, kao što su condylomata acuminata (Ikić i sur., 1975a; Ikić i sur., 1976b). Rezultati su povoljni i preparat se već u praksi primjenjuje u liječenju spomenutih bolesti.

Klinička ispitivanja interferona izašla su iz one prve faze ispitivanja od prije nekoliko godina, kada smo znatizeljno čekali hoće li biti kakvog kliničkog efekta. Danas mi raspolazemo samo s rezultatima usporednog ispitivanja interferona s kontrolnim grupama i s placebom u dvostrukim slijepim pokusima te s rezultatima koji su kod pojedinih bolesti statistički visoko signifikantni u prilog interferonu.

U ovom saopćenju iznijet ćemo samo rezultate ispitivanja utjecaja HLI na tri vrste karcinoma koji su bili dostupni lokalnoj primjeni HLI. Pri izboru bolesnika vodili smo strogo računa o etičkim normama i bolesnici su, ako je trebalo, bili na vrijeme podvrgnuti uobičajenom suvremenom liječenju (Ikić i sur., 1975).

U ovim ispitivanjima HLI je primjenjivan u obliku infiltracijskih injekcija, lokalno u neposrednu blizinu tumora, a površina je premazivana s HLI koji je inkorporiran u masnu podlogu. Primjena HLI trajala je od 21 do 30 dana. Efekt primjene praćen je klinički, histopatološki, a u bolesnica s rakom grlića maternice promatrani su i neki drugi pokazatelji: citološki Papini razmazi, a mjerena je aktivnost betaglukuronidaze u istim fazama menstrualnog ciklusa.

Naš prvi pacijent bila je bolesnica s recidivom karcinoma vulve koji je nastao poslije vulvektomije, iradijacije i kemoterapije. Tumor veličine manjeg oraha nalazio se u predjelu simfize. Površina mu je bila egzulcerirana, a rubovi su odebljali, crveni i uzdignuti. Površina egzulceracije djelomično je bila nagrižena i vidjela se lagana površina nekroza. Tumor je infiltriran s 30 000 jedinica HLI dnevno i premazivan nekoliko puta dnevno s HLI masti (4 000 jed./gram). Tri tjedna nakon takvog liječenja tumor je regredirao. Na mjestu gdje je bio tumor vidjela se bijela amorfna masa poput one na mjestu ožiljka poslije vulvektomije. Okolno i udaljeno područje kože bilo je inflamirano i depigmentirano. Bolesnica je imala i me-

tastaze u regionalnim ingvinalnim limfnim čvorovima obostrano. Po završenoj primjeni HLI nastavljano je uobičajeno liječenje. Bolesnica je živela još godinu dana, a umrla je zbog generaliziranih metastaza.

Druga vrsta raka kod koje smo primijenili HLI bio je karcinom kože na desnoj strani nosa, promjera 1 mm. Tumor je bio u razini kože na kojoj se vidjela i lagana depigmentacija. Histopatološkom analizom dokazano je da se radilo o Ca baseocellulare keratoticum. U tog bolesnika HLI je primjenjivan u obliku intradermalnih injekcija od 5 500 jedinica dnevno u bazu tumora, a sam je tumor premazivan s HLI masti 5—6 puta dnevno. Ta je terapija trajala 30 dana i nakon nje se promjena na koži jedva i nazirala. Kontrolnom histopatološkom analizom ustanovljeno je da se više ne radi o tumoru nego o granulomu. Ispod tankog epidermisa vide se tračci brojnih epitelnih stanica, između kojih je granulaciono tkivo s jednom orijaškom stanicom. U tog bolesnika, koji se redovito jednomesečno kontrolirao, nije došlo do pojave recidiva tokom godinu i po dana.

U drugog bolesnika s rakom kože radilo se o tumoru veličine zrna graška na donjoj vjeđi lijevog oka. Histopatološka je dijagnoza Basalioma mixtum. U preparatu se vidi građa tumora: sitne angularne epitelne stanice u tumorskom tkivu koje prodiru u dublje slojeve kože.

HLI je primjenjivan kao i u prvog bolesnika s rakom kože. Poslije 30 dana veličina tumora se smanjila na veličinu zrna leće, a na površini je ostala centralna egzulceracija veličine od 1×1 mm.

Mjesec dana poslije završene primjene HLI tumor je kirurški odstranjen.

U dva bolesnika s tumorskim promjenama na koži periokularne regije klinički nalaz bio je sumnjiv na karcinom, ali je histopatološka analiza pokazala da se radi o Verruca vulgaris.

Oba su bolesnika primala HLI u obliku intradermalnih injekcija i masti, i nakon 15-dnevne primjene na koži našli smo ožiljak okružen edemom. Poslije godine dana na koži se zamjećuje jedva vidljiv ožiljak na mjestu tumora.

U deset bolesnica s karcinomom grlića maternice radilo se o 3 slučaja Ca planocellulare infiltrans, a u 7 slučajeva o Ca in situ. Bolesnicima je HLI infiltriran u egzocerviks po 30 000 jedinica dnevno, a simultano je oblagan debelom naslagom HLI masti. Taj je postupak trajao zbog etičkih razloga samo 21 dan. U bolesnicâ je izvršen operativni zahvat — ekstirpacija tumora u 3 zbog invazivnog karcinoma, a u 7 bolesnica konizacija zbog karcinoma in situ.

Na tablici 1. prikazan je utjecaj primjene HLI u 10 bolesnica s rakom grlića maternice. U bolesnica pod brojem 1, 2 i 3 citološki Papin test prije primjene HLI kategoriziran je u grupu IV, a poslije trojtjedne primjene u dvije bolesnice je regredirao u grupu Papa III. a u jedne u kategoriju Papa II.

Tablica 1. Utjecaj humanog leukocitnog interferona na planocelularni karcinom cerviksa uterusa

Redni broj	Papa-test		Histologija		Aktivnost beta-glukuronidaze (I.U.)	
	Prije terapije	Poslije terapije*	Prije terapije	Poslije terapije	Prije terapije	Poslije terapije
1.	IV	III	Carcinoma planocellulare	Cervicitis	2170	280
2.	IV	III	Carcinoma planocellulare	Carcinoma micro-invasivum	845	490
3.	IV	II	Carcinoma planocellulare	Carcinoma micro-invasivum	1870	230
4.	IV	III	Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	1030	124
5.	III	II	Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	250	148
6.	IV	III	Carcinoma in situ	Carcinoma micro-invasivum	845	490
7.	IV	III	Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	284	148
8.	V	III	Carcinoma in situ	Leukoplakia	900	223
9.	IV	II	Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	460	31
10.	V	II	Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	322	124

* 3 tjedna, testirano u istoj fazi menstrualnog ciklusa.

Histopatološka analiza tkiva uterusa u jedne bolesnice s invazivnim karcinomom prije primjene HLI pokazala je da se nakon primjene HLI radi samo o cervicitisu, a o mikroinvazionom karcinomu u preostale dvije bolesnice.

Aktivnost betaglukuronidaze prije primjene HLI kretala se od 845 do 2170 i. jedinica, a poslije primjene HLI između 31—490 i. jedinica. U zdravih žena vrijednosti ne prelaze 300 i. j. U bolesnica pod brojem 4—10 s karcinomom *in situ*, Papini testovi su bili kategorizirani u kategorije III, IV ili V, a poslije primjene HLI regresirali su u kategorije III, odnosno II. Serijska histopatološka analiza konizata nije pokazala promjena u 6 bolesnica, a u jedne je dokazana samo leukoplakija.

Kada razmotrimo dobivene rezultate lokalne primjene HLI u 13 bolesnika, tada možemo reći da je moguće postići regresiju lokalnog tumora u relativno kratko vrijeme, kao što je to bio slučaj u bolesnice s recidivom karcinoma vulve i jednog bolesnika s rakom kože; da je u svih bolesnica s rakom grlića maternice postignuta regresija citološkog nalaza Papina testa, a aktivnost betaglukuronidaze normalizirana je u 8 od 10 bolesnica. Histopatološke analize u svih bolesnica nisu pokazale znatnijih promjena osim u dvije. Potrebno je podvući da nijedan od spomenutih parametara nije pokazao znakove progresije.

Prema iskustvima Strandera i suradnika (1975), koji su parenteralno (sistematski) primijenili HLI u 16 bolesnika, i Kishide i suradnika (1975) koji su primijenili HLI u jednog bolesnika s osteogenim sarkomom, čini se da bi interferon mogao biti koristan u sprečavanju nastanka metastaza kada je smanjena masa tumorskog tkiva.

Svi naprijed navedeni rezultati daju opravdani poticaj da se ovakva ispitivanja na pažljivo odabranim bolesnicima s rakom i dalje nastave, što je, uostalom, i bitni dio zaključka stručnjaka iz mnogih zemalja svijeta što su se bili okupili na IX međunarodnom imunobiološkom simpoziju — Simpoziju o kliničkoj primjeni interferona — što ga je organizirala Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti u suradnji s Imunološkim zavodom, Zagreb, 1. i 2. listopada 1975. godine u Zagrebu.

Imunološki zavod, Očna klinika, Klinička bolnica „Dr M. Stojanović“ i Institut za tumore i slične bolesti, Zagreb.

LITERATURA

1. Ikić, D., Juzbašić, M., Dekaris, D., Lulić, V., Rajniger—Miholić, M. i Sinković, D.: Laboratory Examinations of Human Leukocytic Interferon, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
2. Ikić, D., Čupak, K., Trajer, D., Šooš, E., Jušić, D. i Smerdel, S.: Therapy and Prevention of Epidemic Keratoconjunctivitis with Human Leuko-

- cytic Interferon, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
3. Ikić, D., Petričević, I., Soldo, I., Šooš, E., Smerdel, S. i Jušić, D.: Treatment of Influenza with Human Leukocytic Interferon, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 4. Ikić, D., Pražić, M., Smerdel, S., Jušić, D., Delimar, N. i Šooš, E.: Therapy of Herpetic Gingivostomatitis in Children with Human Leukocytic Interferon. Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 5. Dobrenić, M. i Cekić—Arambašin, A.: Study of the Effect of Interferon on the Ulceration of Oral Mucous Membranes, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 6. Ikić, D., Petričević, I., Čupak, K., Trajer, D., Soldo, I., Šooš, E., Jušić, D. i Smerdel, S.: Human Leukocytic Interferon Treatment of Complications Due to Vaccination against Smallpox, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 7. Ikić, D., Smerdel, S., Rajninger—Miholić, M., Šooš, E. i Jušić, D.: Treatment of Labial and Genital Herpes with Human Leukocytic Interferon, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 8. Ikić, D., Pistotnik, M., Grgičević, D., Šooš, E. i Jušić, D.: The Use of Human Leukocytic Interferon in Patients with Trophic Ulcers, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 9. Ikić, D., Oreščanin, M., Krušić, J., Cestar, Z., Alač, Ž., Šooš, E., Jušić, D. i Smerdel, S.: Preliminary Examination of the Effect of Human Leukocytic Interferon on Condylomata Acuminata in Women, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 10. Ikić, D., Bosnić, N., Brnobić, A., Vukelić, V., Smerdel, S., Jušić, D. i Šooš, E.: A Double—Blind Clinical Trial with Human Leukocytic Interferon in the Therapy of Condylomata Acuminata, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).
 11. Ikić, D., Krušić, J., Čupak, K., Car, D., Roguljić, A., Jakaša, V., Jušić, D., Šooš, E. i Turner, V.: The Use of Human Leukocytic Interferon in Patients with Cervical Cancer and Baseocellular Cancer of the Skin, Proc. Symposium on Clinical Use of Interferon, 1&2 October 1975, Zagreb, Yug. Acad. Sci. Arts (u tisku).

SUMMARY

INTERFERON AND ITS USE, WITH SPECIAL REFERENCE TO TUMOURS

by

**D. Ikić, J. Krušić, K. Čupak, E. Šooš, D. Car, A. Roguljić, V. Jakaša,
D. Jušić and S. Smerdel**

The Institute of Immunology has been preparing human leukocyte interferon (HLI) exclusively for local use since 1970. HLI has been used in ophthalmology, infectology, dermatology and gynaecology in the therapy of

viral diseases of the skin and mucous membranes (epidemic keratoconjunctivitis, vaccinia, blepharoconjunctivitis and keratitis, influenza, local complications after vaccination against smallpox, labial and genital herpes simplex, herpes zoster, condylomata acuminata). In double blind clinical trials the results of therapy of herpetic gingivostomatitis, condylomata acuminata and epidemic keratoconjunctivitis were highly significant in favour of interferon.

HLI has been locally used in patients with tumours (one case of recurrent cancer of the vulva, two cases of cancer of the skin in the facial area, two cases of verruca vulgaris in the periocular area and ten cases of cervical cancer). HLI was infiltrated into the immediate vicinity of a tumour (30.000 units daily) and the surface of the tumour was smeared with the preparation incorporated into ointment (4.000 units/g) several times daily. HLI was administered for 21—30 days. The effect was followed up clinically and histopathologically. In patients with cervical cancer the activity of beta-glucuronidase and cytological findings (Papa) were examined.

The results obtained in 13 patients with tumours indicate that it is possible to achieve the regression of local tumours within a comparatively short time (a patient with the recurrent cancer of the vulva and a patient with skin cancer). In patients with cervical cancer there was the regression of cytological Papa findings and the activity of beta-glucuronidase was reduced. A serial histological analysis of cones of tissue showed no changes in six patients (Ca in situ), proved leukoplakia only in one patient, and in three patients with invasive cancer, only cervicitis (one patient) and microinvasive cancer (two patients) were observed after the HLI therapy.

