

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ
МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ

Издается с мая 2002 г.

Учредитель:
Учреждение РАМН
Научно-исследовательский
институт онкологии СО РАМН

Индекс по каталогу «Роспечать» – 46827

www страница:
www.oncology.tomsk.ru/nii/journal/

Электронная версия журнала
также представлена на сайтах:
www.rosoncoweb.ru/journals/sib_oncology/
<http://elibrary.ru/>

Адрес редакции:
634050, г. Томск,
пер. Кооперативный, 5
e-mail: AfanasievSG@oncology.tomsk.ru
тел.: (3822) 418089, 513269
факс: (3822) 418060, 511039

Редакторы:
В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина
Верстка



Подписано в печать 16.08.2013 г.
Формат 84x1081/16.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.
Гарнитура Times New Roman Cyr
Печ. л. 4,9; усл. печ. л. 8,2; уч.-изд. л. 8,0.
Тираж 1000 экз. Заказ.

Учебная производственная типография ТГУ, 634050,
г. Томск, пр. Ленина, 66.

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

Двухмесячный научно-практический журнал

№ 4(58)

2013

Журнал зарегистрирован 20.03.2003 г. в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство № 77-14937

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (решение ВАК РФ № 6/6 от 19.02.10)

Журнал включен в Реферативный журнал и базы данных ВИНТИ, БД «Российский индекс научного цитирования». Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»

Генеральный спонсор журнала
ООО Медицинская компания
«Томскинтерсервис»

При перепечатке ссылка
на «Сибирский онкологический журнал» обязательна

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор –

Е.Л. Чойнзоннов, *д.м.н., академик РАМН,*
профессор

Заместители главного редактора –

В.Е. Гольдберг, *д.м.н., профессор*
Н.В. Чердынцева, *д.б.н., профессор*

Отв. секретарь –

С.Г. Афанасьев, *д.м.н., профессор*

Члены редколлегии:

С.А. Величко, *д.м.н., профессор*
Г.И. Коваленко, *д.м.н., профессор*
Л.А. Коломиец, *д.м.н., профессор*
Л.И. Мусабаева, *д.м.н., профессор*
С.А. Некрылов, *д.и.н., профессор*
В.А. Новиков, *д.м.н.*
В.М. Перельмутер, *д.м.н., профессор*
Л.Ф. Писарева, *д.м.н., профессор*
Е.М. Слонимская, *д.м.н., профессор*
С.А. Тузиков, *д.м.н., профессор*
В.В. Удут, *д.м.н., член-корр. РАМН, профессор*
Л.Н. Уразова, *д.б.н., профессор*
Е.Р. Черных, *д.м.н., профессор*

Редакционный совет:

А.В. Важенин (*Челябинск*)
М.В. Волков (*Владивосток*)
В.В. Дворниченко (*Иркутск*)
Ю.А. Дыхно (*Красноярск*)
А.А. Егоров (*Кемерово*)
П.М. Иванов (*Якутск*)
П.Д. Каратаев (*Якутск*)
В.Л. Коваленко (*Хабаровск*)
С.А. Коломиец (*Томск*)
В.К. Косенок (*Омск*)
Н.Э. Косых (*Хабаровск*)
А.Ф. Лазарев (*Барнаул*)
В.Г. Лалетин (*Иркутск*)
С.В. Лесков (*Чита*)
Ю.А. Магарилл (*Кемерово*)
А.А. Модестов (*Красноярск*)
Ю.Э. Наров (*Новосибирск*)
М.М. Наумов (*Тюмень*)
А.П. Перинов (*Улан-Удэ*)
С.В. Сидоров (*Новосибирск*)
С.Н. Тараканов (*Магадан*)
В.Д. Тимофеев (*Абакан*)
А.А. Шайн (*Тюмень*)

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-chief –

E.L. Choynzonov, *DSc, Academician of RAMS,*
Professor

Deputy Editor-in-chief –

V.G. Goldberg, *DSc, Professor*
N.V. Cherdyntseva, *DSc, Professor*

Executive secretary –

S.G. Afanasyev, *DSc*

Editorial members:

S.A. Velichko, *DSc, Professor*
G.I. Kovalenko, *DSc, Professor*
L.A. Kolomiets, *DSc, Professor*
L.I. Musabaeva, *DSc, Professor*
S.A. Nekrylov, *DHc, Professor*
V.A. Novikov, *DSc*
V.M. Perelmuter, *DSc, Professor*
L.F. Pisareva, *DSc, Professor*
E.M. Slonimskaya, *DSc, Professor*
S.A. Tuzikov, *DSc, Professor*
V.V. Udut, *DSc, Associate Member of RAMS, Professor*
L.N. Urazova, *DSc, Professor*
E.P. Chernykh, *DSc, Professor*

Editorial committee:

A.V. Vazhenin (*Chelyabinsk*)
M.V. Volkov (*Vladivostok*)
V.V. Dvornichenko (*Irkutsk*)
Yu.A. Dykhno (*Krasnoyarsk*)
A.A. Egorov (*Kemerovo*)
P.M. Ivanov (*Yakutsk*)
P.D. Karataev (*Yakutsk*)
V.L. Kovalenko (*Khabarovsk*)
S.A. Kolomiets (*Tomsk*)
V.K. Kosenok (*Omsk*)
N.E. Kosykh (*Khabarovsk*)
A.F. Lazarev (*Barnaul*)
V.G. Laletin (*Irkutsk*)
S.V. Leskov (*Chita*)
Yu.A. Magarill (*Kemerovo*)
A.A. Modestov (*Krasnoyarsk*)
Yu.E. Narov (*Novosibirsk*)
M.M. Naumov (*Tyumen*)
A.P. Perinov (*Ulan-Ude*)
S.V. Sidorov (*Novosibirsk*)
S.N. Tarakanov (*Magadan*)
V.D. Timofeev (*Abakan*)
A.A. Shain (*Tyumen*)

СОДЕРЖАНИЕ

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Литвяков Н.В.</i> Градиентный феномен экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неоадъювантной химиотерапии: связь с прогрессированием заболевания -----	5
<i>Державец Л.А.</i> Лабораторные показатели и выживаемость пациентов, страдающих раком мочевого пузыря -----	12
<i>Рудык Ю.В., Афанасьев С.Г., Тузиков С.А., Добродеев А.Ю., Самцов Е.Н., Фролова И.Г., Савельев И.Н.</i> Эффективность комбинированного лечения больных раком пищевода с применением неоадъювантной химиотерапии -----	17
<i>Гафтон Г.И., Семилетова Ю.В., Анисимов В.В., Гельфонд М.Л., Мяснянкин М.Ю., Новик А.В., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А., Гафтон И.Г.</i> Фотодинамическая терапия в хирургическом лечении больных меланомой кожи -----	23
<i>Курпешев О.К., Павлов В.В., Шкляев С.С.</i> Эффективность локальной гипертермии при химиотерапевтическом и/или лучевом лечении рецидивов лимфомы Ходжкина -----	28
<i>Фролова И.Г., Чойнзонов Е.Л., Боберъ Е.Е., Быстрова Н.Ю., Мухамедов М.Р., Величко С.А.</i> Диагностика рака щитовидной железы с применением высокопольной магнитно-резонансной томографии -----	31
<i>Кашинцев А.А., Коханенко Н.Ю.</i> Взаимосвязь между сахарным диабетом и раком поджелудочной железы -----	36

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Боргоякова М.Б., Ильичев А.А.</i> Картирование эпитопа на белке ErbB-2, узнаваемого моноклональным антителом 4В8, с помощью технологии фагового дисплея -----	40
<i>Горошинская И.А., Неродо Г.А., Сурикова Е.И., Качесова П.С., Внуков В.В., Шалашная Е.В., Нескубина И.В., Немашкалова Л.А., Максимова Н.А., Сергеева М.М.</i> Интенсивность хемолюминесценции, состояние антиоксидантной системы и окислительная модификация белков плазмы крови при развитии рецидива рака яичников -----	45
<i>Исакова Н.Б., Старкова Е.В.</i> Брыжеечные лимфатические узлы при моделировании рака прямой кишки и в условиях химиотерапии -----	50

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

<i>Ананина О.А., Писарева Л.Ф., Одинцова И.Н., Христенко Е.Л., Попкова Г.А., Христенко И.Д.</i> Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения г. Норильска. Формирование групп повышенного риска -----	58
<i>Щербенко О.И., Пархоменко Р.А.</i> К проблеме радиационного канцерогенеза после лечения лимфомы Ходжкина и острого лимфобластного лейкоза у детей и подростков -----	62
<i>Чайченко Д.В., Важенин А.В., Привалов А.В., Надвикова Е.А.</i> Первый опыт использования на Урале двухэтапной методики резекции печени (Split in situ) при обширном метастатическом поражении -----	66

ОБЗОРЫ

<i>Карташев А.В., Войтенков В.Б.</i> Тормозные нейромедиаторы ЦНС и их влияние на опухолевый процесс при глиомах головного мозга -----	69
--	----

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

<i>Вторушин С.В., Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Латыпов В.Р., Бородин О.Ю., Давыдов Д.В.</i> Случай изолированного ретроперитонеального лимфангиомиоматоза -----	74
--	----

CONTENTS

CLINICAL STUDIES

<i>Litviakov N.V.</i> Gradient phenomenon of multidrug resistance gene expression in breast cancer during neoadjuvant chemotherapy is related to disease progression -----	5
<i>Derzhavets L.A.</i> Laboratory indices and survival of urinary bladder cancer patients -----	12
<i>Rudyk Yu.V., Afanasyev S.G., Tuzikov S.A., Dobrodeev A.Yu., Samtsov E.N., Frolova I.G., Savelyev I.N.</i> Efficacy of combined modality treatment including neoadjuvant chemotherapy in patients with esophageal cancer -----	17
<i>Gafton G.I., Semiletova Yu.V., Anisimov V.V., Gelfond M.L., Myasnyankin M.Yu., Novick A.B., Nekhayeva T.L., Balduyeva I.A., Gafton I.G.</i> Photodynamic therapy in surgical treatment of patients by a skin melanoma -----	23
<i>Kurpeshev O.K., Pavlov V.V., Shklyayev S.S.</i> Efficacy of local hyperthermia in chemotherapy and/or radiation therapy for recurrences of Hodgkin's lymphoma -----	28
<i>Frolova I.G., Choinzonov E.L., Bober E.E., Bystrova N.Yu., Mukhamedov M.R., Velichko S.A.</i> Thyroid cancer detection using high-field magnetic resonance imaging -----	31
<i>Kashintsev A.A., Kokhanenko N.Yu.</i> Relationship between diabetes mellitus and pancreatic cancer -----	36

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

<i>Borgoyakova M.B., Ilichev A.A.</i> Mapping of an epitope of ErbB-2 for recognizing by monoclonal antibody 4B8 using phage display technology -----	40
<i>Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Vnukov V.V., Shalashnaja E.V., Neskubina I.V., Nemashkalova L.A., Maximova N.A., Sergeeva M.M.</i> Chemiluminescence intensity, antioxidant system state and oxidative modification of proteins in blood in ovarian cancer patients with a local recurrent tumor -----	45
<i>Isakova N.B., Starkova E.V.</i> Mesenteric lymph nodes in simulated rectal cancer under conditions of chemotherapy -----	50

PRACTICE OF ONCOLOGY

<i>Ananina O.A., Pisareva L.F., Odintsova I.N., Khristenko E.L., Popkova G.A., Khristenko I.D.</i> Cancer incidence among population of Norilsk. Formation of high risk groups for cancer -----	58
<i>Scherbenko O.I., Parkhomenko R.A.</i> To the problem of radiation-induced carcinogenesis after treatment of Hodgkin's lymphoma and acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents -----	62
<i>Chaichenko D.V., Vazhenin A.V., Privalov A.V., Nadvikova E.A.</i> First experience of using two-stage resection of the liver (Split in situ) in patients with extensive metastasis in the Ural region -----	66

REVIEWS

<i>Kartashev A.V., Voitenkov V.B.</i> Inhibitory neurotransmitters and their influence on tumor in patients with gliomas -----	69
--	----

CASE FROM CLINICAL PRACTICE

<i>Vtorushin S.V., Perelmuter V.M., Zavyalova M.V., Latypov V.R., Borodin O.Yu., Davydov D.V.</i> Isolated retroperitoneal lymphangiomyomatosis -----	74
---	----

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК: 618.19-006.6-036.17:575.113:615.28

ГРАДИЕНТНЫЙ ФЕНОМЕН ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ: СВЯЗЬ С ПРОГРЕССИРОВАНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Н.В. Литвяков

*ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: nvlitv72@yandex.ru*

Обследовано 106 больных раком молочной железы (РМЖ), получавших неoadъювантную химиотерапию (НАХТ). При помощи количественной ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени изучена экспрессия 8 генов множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) *ABCB1*, *ABCB2*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2* и *MVP* в биопсийном материале до лечения и в операционном материале после НХТ. Установлено, что у 75 % больных наблюдается однонаправленное изменение экспрессии 5 генов МЛУ *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG1* и *ABCG2* в соответствии с эффектом НАХТ: снижение экспрессии при хорошем ответе и повышение экспрессии при отсутствии клинического эффекта предоперационной химиотерапии, которое было названо градиентным феноменом. У 25 % больных изменение экспрессии генов было разнонаправленным и не коррелировало с непосредственным эффектом НАХТ, при этом констатировали отсутствие градиентного феномена. Показано, что наличие градиентного феномена является благоприятным прогностическим признаком, 5-летняя безметастатическая выживаемость у таких пациенток составила 73 %, против 39 % у больных без градиентного феномена (log-rank test $p=0,0018$). Предполагается, что градиентный феномен является маркером наличия или отсутствия в опухолевых клетках сбалансированной системы генной регуляции и реактивности на химиопрепараты. С практической точки зрения сочетание оценки эффекта предоперационной химиотерапии и изменения экспрессии генов МЛУ в процессе НАХТ может существенно повысить эффективность прогнозирования исхода заболеваний у больных РМЖ.

Ключевые слова: гены множественной лекарственной устойчивости, рак молочной железы, неoadъювантная химиотерапия, безметастатическая выживаемость.

GRADIENT PHENOMENON OF MULTIDRUG RESISTANCE GENE EXPRESSION IN BREAST CANCER DURING
NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IS RELATED TO DISEASE PROGRESSION

N.V. Litviakov

*Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk
5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: nvlitv72@yandex.ru*

The paper examined 106 patients with breast cancer (BC) treated with neoadjuvant chemotherapy (NAC). In the biopsy material, derived from primary tumor before NAC and surgical samples after chemotherapy the expression of 8 multidrug resistance genes (MDR) *ABCB1*, *ABCB2*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2* and *MVP* was evaluated using quantitative RT-PCR. During the NAC course 75 % of patients manifested gradient phenomenon for gene expression that means a unidirectional change in the expression of all five MDR genes *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG1* and *ABCG2* closely associated with the NAC efficacy: the reduction in MDR gene expression was related to good response to NAC while the expression increase associated with poor response to NAC. In 25% of patients there was no such change in studied gene expression that means the lack of a gradient phenomenon. The objective was to study whether gradient phenomenon for MDR gene expression during NAC is related to disease free survival in breast cancer patients. Five-year metastasis-free survival in patients having a gradient phenomenon was 73 % versus 39 % in patients who lack a gradient phenomenon (log-rank test $p=0,0018$). So, the presence of a gradient phenomenon in patients is appeared to be associated with a good disease prognosis. It is assumed that the gradi-

ent phenomenon is the marker indicating the presence of a balanced system of gene regulation and tumor cell response to chemotherapy. Practically, the estimation of the effectiveness of preoperative chemotherapy along with a change in MDR gene expression during NAC could significantly improve prediction of disease outcome in patients with breast cancer.

Key words: multi-drug resistance genes, breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, metastasis-free survival.

В опухолевых клетках в ответ на действие даже одного цитостатика может развиваться множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) к большому количеству других препаратов, еще не воздействовавших на опухоль. В эксперименте показано, что МЛУ обусловлена работой ABC-транспортеров (ATP-Binding Cassette) лекарств, осуществляющих выброс цитостатических и таргетных препаратов из опухолевых клеток против градиента их концентрации, с затратой энергии АТФ [18, 21]. В клинических исследованиях предпринимались попытки связать исходный уровень экспрессии генов и белков ABC-транспортеров с эффектом химиотерапии и прогрессированием заболевания, но их результаты оказались крайне противоречивыми и не позволили сделать однозначные выводы о роли ABC-транспортеров в реализации химиорезистентности опухоли [7, 11, 12, 20, 21].

Нами было показано, что эффективность неoadъювантной химиотерапии (НАХТ), в том числе при раке молочной железы, связана с направлением изменения экспрессии индивидуальных генов МЛУ в опухоли в процессе лечения, а не с исходным уровнем экспрессии каждого из этих генов. Уменьшение экспрессии (или отрицательный градиент) генов МЛУ в опухоли молочной железы после НАХТ по сравнению с биопсийными образцами до лечения ассоциировалось с хорошим ответом на НАХТ. Повышение экспрессии (или положительный градиент) этих генов связано с отсутствием непосредственного эффекта НАХТ. Направление изменения экспрессии отдельных генов МЛУ в опухоли молочной железы при НАХТ имеет значение не только для ответа на химиотерапию, но и ассоциировано с безметастатической выживаемостью. Ранее также было установлено, что снижение экспрессии любого из генов *ABCB1*, *ABCC2* или *ABCG1* в процессе НАХТ является благоприятным прогностическим фактором, а повышение экспрессии – неблагоприятным фактором [3]. Следует отметить, что формирование МЛУ – это процесс, который обусловлен комплексной работой нескольких ключевых генов МЛУ [8, 18].

Целью исследования явилось изучение изменения экспрессии комплекса основных генов МЛУ в процессе НХТ больных раком молочной железы и оценка связи этих изменений с безметастатической выживаемостью.

Материал и методы

Было обследовано 106 больных с морфологически верифицированным раком молочной железы ПА–IIIС стадий ($T_{1-4}N_{0-3}M_0$), в возрасте 28–68 лет (средний возраст – $47,43 \pm 0,78$ года), получавших лечение в клинике ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН» в 2006–2010 гг. Исследование проходило в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (исправленной в 1975 и 1983 гг.) и с разрешения локального этического комитета института. Были получены информированные согласия пациентов. Более 85 % больных имели инвазивный протоковый рак, у 75 % размер опухоли составил 2–5 см (T_2) и у 64 % пациенток были лимфогенные метастазы. Иммуногистохимическое исследование включало оценку экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и HER2/neu на опухолевых клетках.

Все больные получили 2–4 курса неoadъювантной химиотерапии по схемам FAC (фторурацил, доксорубин, циклофосфан), SAH (циклофосфан, доксорубин, кселода) или монотерапию таксотером [19]. Через 3–5 нед после НАХТ проводилась операция в объеме радикальной мастэктомии, радикальной резекции или секторальной резекции с аксиллярной лимфаденэктомией, затем больным проводили 4 курса адъювантной химиотерапии по схеме FAC. Лучевая терапия и/или гормонотерапия назначались по показаниям.

Эффективность предоперационной химиотерапии оценивали по критериям ВОЗ с помощью УЗИ и маммографии, которые проводили до лечения, после 2 курсов НАХТ и перед операцией. Регистрировали полную регрессию, частичную регрессию (уменьшение объема опухоли более чем на 50 %), стабилизацию (снижение объема менее чем на 50 % или увеличение не более чем на 25 %) и прогрессирование (увеличение объема опухоли более чем на 25 %). Для оценки экспрессии генов МЛУ были использованы биопсийные опухолевые об-

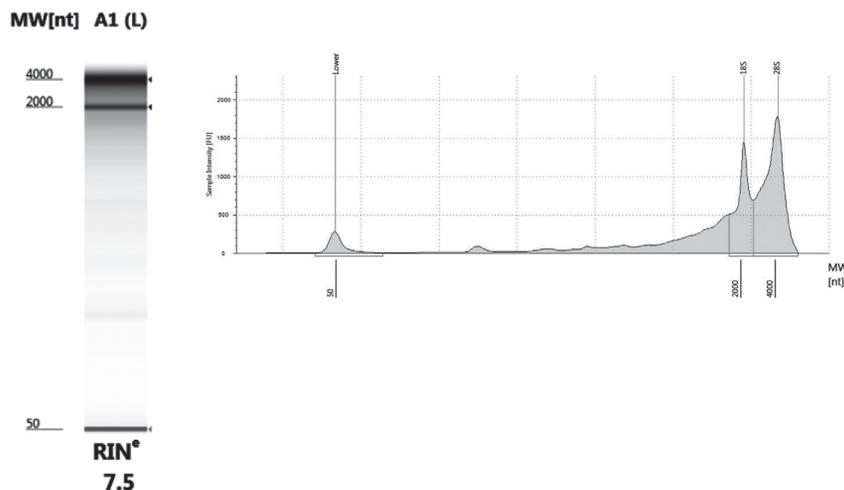


Рис. 1. Электрофореграмма и денситограмма тотальной РНК, выделенной из опухоли молочной железы при помощи набора RNeasy Mini Kit Plus (Qiagen, Germany). Капиллярный электрофорез выполнен на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA). Видны бенды 28S и 18S рибосомальной РНК, показатель целостности РНК – RIN (RNA Integrity Number) составил 7,5. Спектрофотометрические показатели этого образца РНК – A260/280=1,95, A260/230=2,34; концентрация – 153 нг/мкл

разцы (~10 мм³), взятые до лечения под контролем УЗИ, а также операционный материал (~60–70 мм³). Больные, у которых в процессе НАХТ была достигнута полная морфологическая регрессия, не были включены в исследование, поскольку не представлялось возможным оценить уровень экспрессии генов МЛЮ в опухоли после терапии. Частичная регрессия отмечена у 58 больных, стабилизация – у 39, прогрессирование – у 9 пациенток.

Исследуемые образцы помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, Germany) и сохраняли при температуре –80°C (после 24-часовой инкубации при +4°C) для дальнейшего выделения РНК. Тотальная РНК была выделена с помощью набора RNeasy mini Kit Plus, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany) с использованием ингибитора РНК-аз Ribolock (Fermentas, Lithuania). Качество выделенной РНК проверяли при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA), и RIN (RNA Integrity Number) составил 5,6–7,6 (рис. 1). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора RevertAid™ (Fermentas, Lithuania) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. Остальные манипуляции, последовательность праймеров и методика оценки относительной экспрессии генов МЛЮ описаны ранее [13]. В качестве результата оценивался уровень экспрессии 8 генов МЛЮ:

ABCB1, ABCB2, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2 и *MVP* относительно гена-рефери *GAPDH* и нормальной ткани молочной железы, вычисляемый по методу Pfaffl (2001) [16] в биопсии до лечения и операционном материале после НАХТ. Сравнивая уровень экспрессии генов МЛЮ до лечения и после НАХТ, определяли направление ее изменения: повышение или снижение в процессе НАХТ.

Для проверки гипотезы о значимости различий по частоте признака использовали критерий χ^2 («STATISTICA 8.0», StatSoft Inc., США) и http://www.physics.csbsju.edu/stats/exact_NROW_NCOLUMN_form.html, показатель относительного риска – RR с 95 % доверительным интервалом (CI) вычислялся на калькуляторе <http://vassarstats.net/odds2x2.html>. Для анализа безметастатической выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана–Майера [10]. Оценка значимости различий между группами производилась с помощью log-rank теста («STATISTICA 8.0», StatSoft Inc., США).

Результаты и обсуждение

На первом этапе были изучены закономерности изменения экспрессии комплекса основных генов МЛЮ в процессе НАХТ и отмечено интересное явление: у большинства пациенток – 80 (75 %) случаев – экспрессия 5 из 8 изучаемых генов МЛЮ (*ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCG1* и *ABCG2*) изменялась в одном направлении и в строгом со-

ответствии с эффектом НАХТ, т.е. наблюдалось снижение экспрессии всех 5 генов при хорошем ответе на НАХТ, либо повышение их экспрессии при отсутствии ответа. Это явление однонаправленного изменения экспрессии комплекса 5 генов МЛУ *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG1* и *ABCG2* в строгом соответствии с эффектом НАХТ было названо нами градиентным феноменом. Примечательно, что вектор изменения экспрессии в процессе НАХТ именно этих генов показал наибольшую связь с эффективностью НАХТ [13]. У 25 % (26 из 106) больных не наблюдалось однонаправленного изменения экспрессии генов МЛУ в соответствии с эффектом НАХТ. Изменение экспрессии 2 или более из 5 выявленных генов МЛУ было разнонаправленным и не соответствовало эффекту НАХТ. По-видимому, у этих пациенток при проведении НАХТ происходило разобщение регуляции комплекса 5 генов МЛУ, и градиентный феномен не наблюдался.

Для того чтобы установить патогенетическую значимость градиентного феномена, была изучена его связь с безметастатической выживаемостью. Всех больных в зависимости от наличия/отсутствия градиентного феномена при проведении НАХТ разделили на две группы: 1-ю группу составили 80 больных с наличием феномена, 2-ю группу – 26 больных с его отсутствием. Сравнимые группы больных не различались по основным клинкопатологическим параметрам (таблица). Можно отметить только тенденцию к увеличению частоты встречаемости отрицательного рецепторного статуса (ER- и PR-) у больных без градиентного феномена. Также группы не различались по среднему уровню экспрессии генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG1* и *ABCG2* в биопсийном образце опухоли до лечения и операционном материале после НАХТ (данные не представлены). Это дает основания полагать, что наличие/отсутствие градиентного феномена не ассоциировано с основными клинкопатологическими параметрами, в том числе и молекулярными подтипами РМЖ, и позволяет корректно провести сравнение показателей безметастатической выживаемости в обеих группах.

На следующем этапе была изучена связь градиентного феномена с показателями безметастатической выживаемости. В общей группе из 106 обследованных пациентов отдаленные метастазы развились у 35 (33 %) больных в сроки 3–48 мес

от момента постановки диагноза. Трехлетняя безметастатическая выживаемость составила 72 %, 5-летняя – 65 %. При наличии градиентного феномена 5-летняя безметастатическая выживаемость составила 73 % против 39 % у больных без градиентного феномена (log-rank test $p=0,0018$) (рис. 2А). Частота метастазирования – 25 % и 58 % соответственно ($p=0,0021$, критерий χ^2). Это позволяет рассматривать наличие градиентного феномена у пациентов в качестве благоприятного прогностического фактора. При отсутствии градиентного феномена относительный риск развития гематогенных метастазов $RR=1,77$ (95% CI 1,11–2,83, уровень доверительной значимости с поправкой Йетса $p=0,005$).

Градиентный феномен является независимым прогностическим фактором, который успешно работает и позволяет дифференцировать больных по возможному исходу заболевания в таких, казалось бы, клинически «однородных» группах, как пациентки с местным распространением опухоли, соответствующей T₂ (рис. 2Б) ($RR=2,32$ (95 % CI 1,19–4,52), $p=0,001$), с наличием лимфогенного метастазирования (рис. 2В) ($RR=2,45$ (95 % CI 1,12–5,36), $p=0,01$) и больные с люминальным РМЖ (рис. 2Г) ($RR=1,74$ (95 % CI 0,90–3,38), $p=0,03$).

Таким образом, градиентный феномен имеет выраженную связь с прогрессией заболевания при раке молочной железы. Примечательно, что безметастатическая выживаемость была высокой (73 %) у больных РМЖ с наличием градиентного феномена при проведении НАХТ вне зависимости от того, достигнута частичная регрессия, стабилизация или прогрессирование. Низкая безметастатическая выживаемость (39 %) у больных с отсутствием градиентного феномена также не зависела от эффекта НАХТ (таблица). Это в определенной мере объясняет результаты исследования N. Wolmark et al. (2001) [22], которые показали, что только достижение полной морфологической регрессии при проведении НАХТ является благоприятным прогностическим фактором, а группы с частичной регрессией, стабилизацией или прогрессированием значимо не различались по показателям общей и безметастатической выживаемости.

Учитывая высокую прогностическую значимость градиентного феномена, можно предположить, что его наличие при проведении НАХТ

является маркером сохранения в опухолевых клетках «нормальной» (сбалансированной) системы генной регуляции и клеточного ответа на химиопрепараты. Все 5 генов МЛЮ локализованы в разных хромосомах (*ABCBI* – 7q21.12; *ABCC1* – 16p13.11; *ABCC2* – 10q24.2; *ABCG1* – 21q22.3; *ABCG2* – 4q22.1 <http://www.genecards.org/>), соответственно, они не являются сцепленными, но имеют общие сигнальные и метаболические пути [18]. Однонаправленность из-

менений экспрессии этого комплекса 5 генов МЛЮ показывает сохранение интактности системы их регуляции и, по всей вероятности, свидетельствует о сохранности в опухолевых клетках баланса многих систем жизнеобеспечения, реактивности и гибели.

Отсутствие градиентного феномена при проведении НАХТ предположительно является маркером серьезных нарушений в реакции на химиопрепараты (включая такие процессы, как

Таблица

Клинико-патологические параметры в группах больных РМЖ с наличием и отсутствием градиентного феномена

Клинико-патологические параметры	Градиентный феномен		p-value
	Есть	Нет	
≤45 лет	26 (33 %)	10 (38 %)	0,577
>45 лет	54 (67 %)	16 (62 %)	
Пременопауза	45 (56 %)	17 (65 %)	0,412
Постменопауза	35 (44 %)	9 (35 %)	
T ₁₋₂	71 (89 %)	21 (81 %)	0,296
T ₃₋₄	9 (11 %)	5 (19 %)	
N ₀	32 (40 %)	7 (27 %)	0,229
N ₁₋₃	48 (60 %)	19 (73 %)	
Инвазивный протоковый рак	68 (85 %)	23 (88 %)	0,660
Другие гистотипы	12 (15 %)	3 (12 %)	
1-я степень злокачественности	3 (5 %)	1 (4 %)	0,455
2-я степень злокачественности	55 (87 %)	19 (79 %)	
3-я степень злокачественности	5 (8 %)	4 (17 %)	
ER+	44 (59 %)	10 (40 %)	0,105
ER-	31 (41 %)	15 (60 %)	
PR+	46 (61 %)	10 (40 %)	0,063
PR-	29 (39 %)	15 (60 %)	
HER2 (- или +)	53 (71 %)	18 (72 %)	0,971
HER2 (++) или (+++)	21 (29 %)	7 (28 %)	
Люминальный	52 (66 %)	11 (44 %)	0,129
Трижды негативный	15 (19 %)	9 (36 %)	
HER2 позитивный	12 (15 %)	5 (20 %)	
Уницентрический	57 (71 %)	15 (58 %)	0,198
Мультицентрический	23 (29 %)	11 (42 %)	
НХТ по схемам САХ или FAC	60 (75 %)	22 (85 %)	0,308
НХТ по схеме таксотер	20 (25 %)	4 (15 %)	
Частичная регрессия	45 (56 %)	13 (50 %)	0,587
Стабилизация + прогрессирование	35 (44 %)	13 (50 %)	

Примечание: p-value – уровень статистической значимости различий по критерию χ^2 , в группе люминальный рак – в основном больные с люминальным В подтипом.

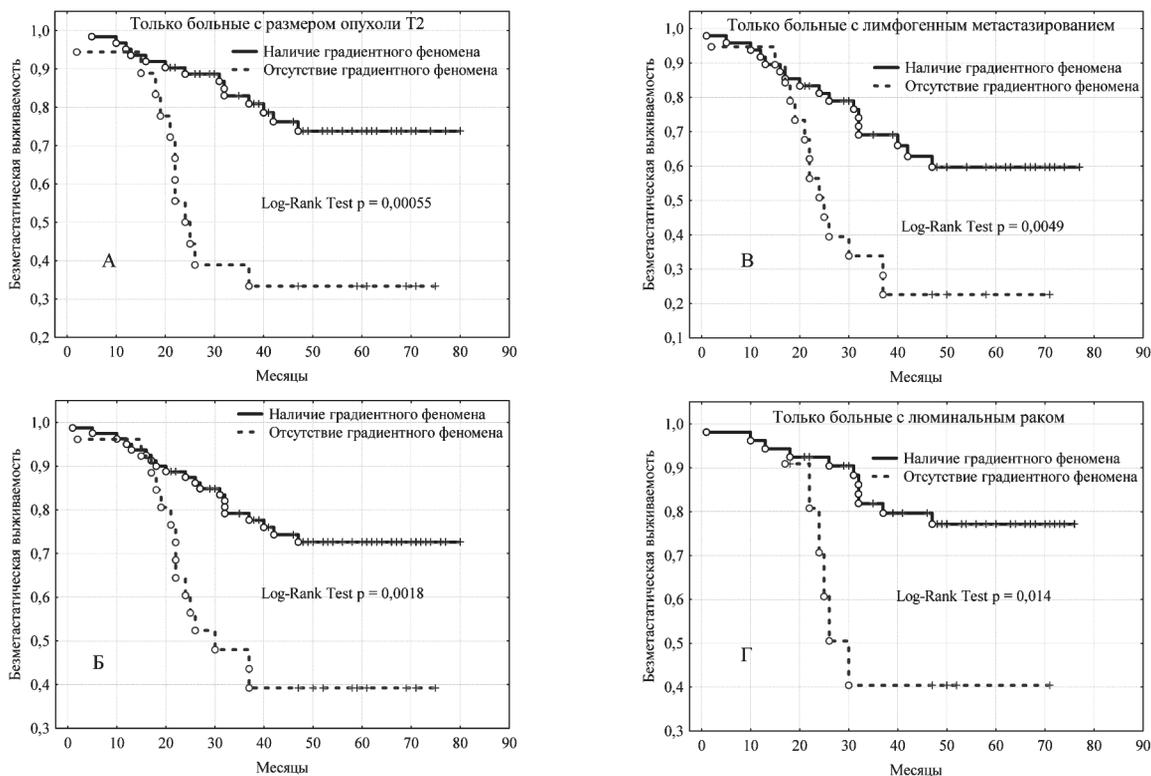


Рис. 2. Безметастатическая выживаемость больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия градиентного феномена. А – общая группа, Б – больные с опухолью Т2, В – больные с лимфогенным метастазированием, Г – больные с люминальным раком молочной железы

метаболическая активация, детоксикация и удаление ксенобиотиков, остановка клеточного цикла, репарация и апоптоз) и в системе геной регуляции (дизрегуляция и дисбаланс) опухолевых клеток, показывая их высокий агрессивный потенциал. В отсутствие градиентного феномена при НАХТ могут играть роль такие нарушения процесса апоптоза, индуцируемого лекарственными средствами, как неадекватность ответа на химиопрепараты, вплоть до стимуляции пролиферации вместо апоптоза. Возможны нарушения в трансдукции сигнала вплоть до реверсии реактивности клеточных рецепторов адгезии (кадхеринов, интегринов, катенинов), рецепторов факторов роста, frizzled (G-белок связанных) рецепторов и др. [8]. Высокая внутриопухолевая гетерогенность, свойственная РМЖ, с большим числом клонов, несущих разные первичные и вторичные драйверные мутации и мутации-«пассажиры» [4, 23], может вносить вклад в формирование градиентного феномена. Например, драйверные мутации гена-супрессора опухо-

левого роста *TP53* могут приводить к инактивации или парадоксальной реализации (активации вместо ингибирования и наоборот) многих клеточных функций, таких как апоптоз, репарация, регуляция экспрессии множества генов, в том числе и генов МЛУ [1, 5, 6, 9, 14, 17]. При этом интересно, что частота мутаций *TP53* при РМЖ составляет 25 % [15], и это совпадает с частотой отсутствия у больных градиентного феномена (25 %). Полученные результаты свидетельствуют об актуальности дальнейшего исследования механизмов, определяющих наличие/отсутствие градиентного феномена, и его значения для клеточной регуляции.

Заключение

Установлен новый потенциальный прогностический фактор, не зависящий от основных клинко-патологических факторов прогноза – наличие или отсутствие градиентного феномена, который наблюдается при проведении НАХТ и характеризуется однонаправленными изменениями экспрессии генов МЛУ *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG1* и

ABCG2 в строгом соответствии с эффектом НАХТ. Наличие у больной РМЖ градиентного феномена является благоприятным прогностическим признаком независимо от клинического ответа на химиотерапию. Если градиентный феномен не наблюдался при проведении НАХТ, то у таких пациенток почти в 2 раза увеличивался относительный риск гематогенного метастазирования (RR=1,77). Предполагается, что градиентный феномен является маркером наличия или отсутствия в опухолевых клетках сбалансированной системы генной регуляции и реактивности на химиопрепараты. Это требует дальнейших исследований, актуальность которых обусловлена прогностической значимостью градиентного феномена. С практической точки зрения сочетание оценки эффекта предоперационной химиотерапии и градиента экспрессии генов МЛУ в процессе НАХТ может существенно повысить эффективность прогноза при раке молочной железы.

Работа поддержана грантом ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» по теме «Оптимизация стратегии химиотерапии рака молочной железы на основе факторов химиорезистентности и химиочувствительности», соглашение № 8291 от 27 августа 2012 г.

Автор выражает глубокую признательность за помощь в выполнении работы сотрудникам ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН Н.В. Чердынцевой, Е.М. Слонимской, М.М. Цыганову, Е.Ю. Гарбукову, Е.В. Денисову, М.В. Завьяловой, В.М. Перельмутеру.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гервас П.А., Литвяков Н.В., Стахеева М.Н. и др. Влияние полиморфизма генов апоптоза и репарации на эффективность неoadъювантной химиотерапии злокачественных новообразований // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 4 (34). С. 41–47.
2. Литвяков Н.В., Денисов Е.В., Гарбуков Е.Ю. и др. Экспрессия генов резистентности и маркеров химиочувствительности в опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии // Молекулярные и биологические технологии в медицинской практике. 2011. Вып. 16. С. 69–74.
3. Литвяков Н.В., Гарбуков Е.Ю., Слонимская Е.М. и др. Связь безметастатической выживаемости больных раком молочной железы и вектора изменения экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли при проведении неoadъювантной химиотерапии // Вопросы онкологии. 2013. Т. 59, № 3. С. 334–340.
4. Чердынцева Н.В., Литвяков Н.В., Денисов Е.В. Основные достижения в фундаментальной онкологии в 2012 году // Практическая онкология. 2013. Т. 14, № 1. С. 1–12.
5. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биологической химии. 2007. Т. 47. С. 3–52.
6. Cherdynytseva N.V., Gervas P.A., Litviakov N.V. et al. Age-related function of tumor suppressor gene TP53: contribution to cancer risk and progression // Exp. Oncol. 2010. Vol. 32 (3). P. 205–208.
7. Fletcher J.L., Haber M., Henderson M.J., Norris M.D. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps // Natl. Rev. Cancer. 2010. Vol. 10 (2). P.147–156.
8. Gillet J.P., Gottesman M.M. Overcoming multidrug resistance in cancer: 35 years after the discovery of ABCB1 // Drug Resist. Updat. 2012. Vol. 15 (1). P. 2–4.
9. Johnson R.A., Ince T.A., Scotto K.W. Transcriptional repression by p53 through direct binding to a novel DNA element // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276 (29). P. 27716–27720.
10. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations // J. Am. Stat. Associat. 1958. Vol. 53 (282). P. 457–481.
11. Kuo M.T. Roles of multidrug resistance genes in breast cancer chemoresistance // Adv. Exp. Med. Biol. 2007. Vol. 608. P. 23–30.
12. Leonessa F., Clarke R. ATP binding cassette transporters and drug resistance in breast cancer // Endocr. Relat. Cancer. 2003. Vol. 10 (1). P. 43–73.
13. Litviakov N.V., Cherdynytseva N.V., Tsyganov M.M. et al. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response // Cancer Chemother. Pharmacol. 2013. Vol. 71 (1). P. 153–163.
14. Litviakov N.V., Denisov E.V., Takhauov R.M. et al. Association between TP53 gene ARG72PRO polymorphism and chromosome aberrations in human cancers // Mol. Carcinogenesis. 2010. Vol. 49 (6). P. 521–524.
15. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2010. Jan; 2 (1): a001008. doi: 10.1101/cshperspect.a001008.
16. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // Nucleic Acids Res. 2001. Vol. 29 (9). P. e45.
17. Sampath J., Sun D., Kidd V.J. et al. Mutant p53 cooperates with ETS and selectively up-regulates human MDR1 not MRP1 // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276 (42). P. 39359–39367.
18. Schinkel A.H., Jonker J.W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview // Adv. Drug Deliv. Rev. 2003. Vol. 55 (1). P. 3–29.
19. Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the Consensus Conference on Neoadjuvant Chemotherapy in Carcinoma of the Breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania // Cancer. 2004. Vol. 100 (12). P. 2512–2532.
20. Szakacs G., Paterson J.K., Ludwig J.A. et al. Targeting multidrug resistance in cancer // Nat. Rev. Drug Discov. 2006. Vol. 5 (3). P. 219–234.
21. Wind N., Holen I. Multidrug Resistance in Breast Cancer: From In Vitro Models to Clinical Studies // Int. J. Breast Cancer. 2011. Vol. 2011. P. 1–12.
22. Wolmark N., Wang J., Mamounas E. et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 // J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 2001 (30). P. 96–102.
23. Zavyalova M.V., Perelmuter V.M., Vtorushin S.V. et al. The presence of alveolar structures in invasive ductal NOS breast carcinoma is associated with lymph node metastasis // Diagn. Cytopathol. 2013. Vol. 41 (3). P.279–282.

Поступила 23.04.13

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Л.А. Державец

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», г. Минск
223040, Минский район, п. Лесной, Республика Беларусь,
e-mail: OncoBel@omr.med.by*

Современными лабораторными методами проведено исследование опухолевых маркеров, факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии в биологических жидкостях 549 больных немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря (у 264 пациентов имелась единичная опухоль, у 285 – множественные опухолевые очаги). Проводился анализ взаимосвязи четырех показателей, максимально коррелирующих с количеством опухолевых очагов в мочевом пузыре, с выживаемостью пациентов. При проведении лог-ранк теста установлена взаимосвязь уровней UBC, sICAM, TPS, p185 в биологических жидкостях с выживаемостью ($P_{\text{лог-ранк}} < 0,05$). Содержание UBC в моче и sICAM в сыворотке крови влияет на общую, скорректированную, безрецидивную выживаемость пациентов как с единичным опухолевым очагом, так и с множественными опухолевыми очагами в мочевом пузыре. Уровень TPS в крови оказывает влияние на показатели выживаемости, но только у больных с единичным опухолевым очагом. Уровень p185 в крови значительно влияет на все виды рассчитанной выживаемости пациентов, страдающих немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. Многофакторный анализ, включающий все четыре показателя, с использованием регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса выявил, что высокий уровень p185 в крови является фактором неблагоприятного прогноза безрецидивной выживаемости: при концентрации p185 < 4,43 нг/мл 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с единичным опухолевым очагом в мочевом пузыре составила 95,9 %, при p185 ≥ 4,43 нг/мл – 64,1 %; больных с множественными опухолевыми очагами при p185 < 5,7 нг/мл – 83,6 %, при p185 ≥ 5,7 нг/мл – 30,0 % соответственно.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, выживаемость, лабораторные показатели, биологические жидкости.

LABORATORY INDICES AND SURVIVAL OF URINARY BLADDER CANCER PATIENTS

L.A. Derzhavets

*N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk
Lesnoy per., 223040, Republic of Belarus, e-mail: OncoBel@omr.med.by*

Current laboratory techniques were used for evaluation of tumor markers, growth factors, angiogenesis, intercellular adhesion in biological fluids of 349 patients with nonmusculo-invasive urinary bladder cancer (264 patients had a single tumor and 285 presented with multiple tumor foci). An analysis was made of the correlation between four indices most closely related with the number of tumor foci in the bladder, and patient survival. The log-rank test found a correlation between the levels of UBC, sICAM, TPS, p185 in biological fluids, and survival ($P_{\text{лог-ранк}} < 0,05$). The values of UBC in urine and sICAM in blood serum affect overall, cancer-specific, recurrence-free survivals of patients with either a single tumor focus or multiple tumor foci in the bladder. TPS blood levels affect the same survivals but only in patients with a single tumor focus. As regards p185, the level of this protein has a significant impact on all the calculated survivals of patients with nonmusculo-invasive bladder cancer. Multivariate analysis including all the four indices, with Cox proportional hazards regression model, found that a high blood level of p185 is an unfavourable prognostic factor for recurrence-free survival: with p185 concentration < 4,43 ng/ml, 5-year recurrence-free survival of patients with a single tumor focus in the bladder was 95,9 % and with p185 ≥ 4,43 ng/ml it was 64,1 %; in patients with multiple tumor foci it was 83,6 % with p185 < 5,7 ng/ml and 30,0 % with p185 ≥ 5,7 ng/ml.

Key words: urinary bladder cancer, survival, laboratory indices, biological fluids.

Для прогноза выживаемости пациентов, страдающих раком мочевого пузыря (РМП), важное значение имеют глубина инвазии, степень дифференцировки опухолевых клеток, поражение регионарных лимфатических узлов, наличие кар-

циномы in situ, размер и количество первичных новообразований, а также продолжительность безрецидивного периода [1, 7]. Однако отдаленные результаты лечения пациентов с опухолями, составляющими одну классификационную группу

(мышечно-инвазивный РМП или неммышечно-инвазивный РМП), существенно различаются [2]. Особенно это заметно при неммышечно-инвазивном раке мочевого пузыря, который не является гомогенной группой злокачественных новообразований, а включает: папиллярные новообразования, ограниченные слизистой оболочкой мочевого пузыря (T_a); опухоли, прорастающие в подслизистый слой (T_b); интраэпителиальные новообразования с низкой степенью дифференцировки [4, 8]. Кроме того, течение и прогноз заболевания во многом зависят от количества опухолевых очагов в мочевом пузыре [3]. Общая 5-летняя выживаемость пациентов, страдающих неммышечно-инвазивным РМП, по данным разных авторов, варьирует в пределах от 68 до 80 %, а частота рецидивов после трансуретральной резекции составляет 50–80 % [5, 6]. Поэтому в последние годы предпринимаются попытки выявить дополнительные прогностические факторы, которые позволили бы отличить опухоли с высоким риском прогрессирования и рецидивирования и своевременно применить дифференцированный лечебный подход.

Цель исследования – проанализировать взаимосвязь уровней лабораторных показателей в биологических жидкостях пациентов, страдающих неммышечно-инвазивным раком мочевого пузыря, с выживаемостью и оценить их значение для прогноза заболевания.

Материал и методы

Материалом для исследования служили сыворотка и плазма крови, моча 549 пациентов (495 мужчин и 54 женщины) с диагнозом неммышечно-инвазивный рак мочевого пузыря. Возраст пациентов варьировал от 30 до 85 лет, большинство относилось к возрастной категории старше 60 лет. Диагноз РМП установлен на основании рентгенологических, эндоскопических, клинических методов исследования с обязательной морфологической верификацией. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от количества опухолевых очагов: I группа ($n=264$) – у пациентов имелась единичная опухоль мочевого пузыря, II группа ($n=285$) – множественные опухолевые очаги. У всех пациентов, обследованных современными лабораторными методами (иммуноферментным, иммунотурбидиметрическим, спектрофлуориметрическим), проводилось определение в биологических жидкостях концентрации опухолевых

маркеров, факторов роста, ангиогенеза, межклеточной адгезии и растворимых форм их рецепторов, факторов повреждения эндотелия, продуктов воспаления, окислительной модификации белков и липидов.

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программного обеспечения R-statistica, версия 2.6.2. Для оценки прогностической значимости лабораторных показателей в зависимости от отдаленных результатов лечения рассчитаны значения общей выживаемости (ОВ), скорректированной (онкоспецифической) выживаемости (ОВК), безрецидивной выживаемости (БРВ), выживаемости до прогрессирования (ВДП) по методу Каплана–Майера. Для сравнения выживаемости в группах использовался лог-ранк тест, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки влияния потенциальных факторов риска на выживаемость использовался регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса.

Результаты и обсуждение

Анализ широкого спектра лабораторных показателей (27 параметров) в биологических жидкостях пациентов, страдающих неммышечно-инвазивным РМП, показал, что информативными показателями для определения количества опухолевых очагов являются опухолевые маркеры: UBC (Urinary Bladder Cancer), TPS (Tissue Polypeptide Antigen Specific); растворимая форма рецептора эпидермального фактора роста p185, фактор межклеточной адгезии sICAM (Intercellular Adhesion Molecule) [3]. Проводился анализ взаимосвязи этих показателей с выживаемостью пациентов, страдающих РМП. Для определения влияния уровня лабораторных показателей на выживаемость формировались группы с использованием медианы (Me) каждого показателя ($< Me$ и $\geq Me$).

Общая 5-летняя выживаемость во всей анализируемой когорте больных составила $78,3 \pm 1,7$ %, причем в группе пациентов с единичным опухолевым очагом – $79,6 \pm 2,5$ % (медиана наблюдения – 40,32 мес), в группе пациентов с множественными опухолевыми очагами – $74,5 \pm 2,6$ % (медиана наблюдения – 37,98 мес). Общая 5-летняя скорректированная выживаемость составила $87,0 \pm 1,4$ %, $89,7 \pm 1,9$ %, $83,6 \pm 2,2$ %; 5-летняя безрецидивная выживаемость – $65,4 \pm 2,0$ %, $78,5 \pm 2,5$ %, $52,6 \pm 3,0$ % соответственно. Что касается уровня выживаемости до прогрессирования, она практически не

отличалась, составляя во всей группе – $96,9 \pm 0,7\%$, в группе с единичным опухолевым очагом – $96,3 \pm 1,2\%$, в группе с множественными опухолевыми очагами – $94,6 \pm 1,3\%$. Таким образом, наличие множественных опухолевых очагов в мочевом пузыре является одним из неблагоприятных факторов прогноза для общей, скорректированной и безрецидивной выживаемости.

При проведении однофакторного анализа выявлено, что уровень УВС оказывает влияние на все виды рассчитанных показателей выживаемости (табл. 1), кроме выживаемости до прогрессирования, как в группе пациентов с единичным опухолевым очагом в мочевом пузыре, так и у пациентов с множественными опухолевыми очагами.

Общая, скорректированная и безрецидивная выживаемость пациентов с единичным опухолевым очагом в мочевом пузыре при высоком уровне TPS значительно ниже, чем при уровне $TPS < 97,5$ МЕд/мл

($p_{\text{лог-ранк}} < 0,05$). У пациентов с множественными опухолевыми очагами уровень TPS в крови значимо повлиял только на безрецидивную выживаемость (табл. 2).

Выживаемость пациентов, страдающих РМП, в зависимости от уровня sICAM в сыворотке крови, представлена в табл. 3. Уровень sICAM оказывает существенное влияние на все виды рассчитанных показателей выживаемости, кроме выживаемости до прогрессирования.

Выживаемость пациентов, страдающих РМП, в зависимости от уровня p185 в сыворотке крови, представлена в табл. 4. У пациентов с высоким уровнем p185 ($\geq Me$) как в группе с единичным опухолевым очагом, так и в группе с множественными опухолевыми очагами выявлены достоверно более низкие уровни выживаемости ($p_{\text{лог-ранк}} < 0,05$).

Поскольку немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря обладает выраженной тенденцией к

Таблица 1

Показатели 5-летней выживаемости больных РМП в зависимости от уровня УВС в моче

Показатели выживаемости	I группа			II группа		
	<18,5 мкг/мл (n=131)	$\geq 18,5$ мкг/мл (n=133)	$P_{\text{лог-ранк}}$	<23,7 мкг/мл (n=142)	$\geq 23,7$ мкг/мл (n=143)	$P_{\text{лог-ранк}}$
ОВ	$89,9 \pm 2,6\%$	$72,4 \pm 3,9\%$	0,0100	$84,5 \pm 3,0\%$	$65,1 \pm 4,0\%$	0,0003
ОВК	$94,9 \pm 1,9\%$	$84,2 \pm 3,2\%$	0,0329	$93,0 \pm 2,2\%$	$74,6 \pm 3,6\%$	<0,0001
БРВ	$89,2 \pm 2,7\%$	$69,7 \pm 4,0\%$	0,0070	$57,9 \pm 4,1\%$	$49,2 \pm 4,2\%$	0,0133
ВДП	$97,6 \pm 1,4\%$	$95,1 \pm 1,9\%$	0,0551	$93,3 \pm 0,7\%$	$96,0 \pm 1,6\%$	0,0492

Таблица 2

5-летняя выживаемость больных РМП в зависимости от уровня TPS в сыворотке крови

Показатели выживаемости	I группа			II группа		
	<97,5 МЕд/мл (n=130)	$\geq 97,5$ МЕд/мл (n=132)	$P_{\text{лог-ранк}}$	<101,0 МЕд/мл (n=139)	$\geq 101,0$ МЕд/мл (n=146)	$P_{\text{лог-ранк}}$
ОВ	$89,3 \pm 2,7\%$	$72,6 \pm 3,8\%$	0,0303	$81,1 \pm 3,3\%$	$68,8 \pm 3,8\%$	0,2240
ОВК	$95,2 \pm 1,9\%$	$83,7 \pm 3,2\%$	0,0299	$89,4 \pm 2,6\%$	$78,4 \pm 3,4\%$	<0,1028
БРВ	$89,2 \pm 2,7\%$	$68,8 \pm 4,0\%$	0,0031	$64,1 \pm 4,1\%$	$44,4 \pm 4,1\%$	0,0485
ВДП	$96,7 \pm 1,6\%$	$96,1 \pm 1,7\%$	0,2471	$98,4 \pm 1,1\%$	$97,1 \pm 1,4\%$	0,6683

Таблица 3

5-летняя выживаемость больных РМП в зависимости от уровня sICAM в сыворотке крови

Показатели выживаемости	I группа			II группа		
	<122,8 нг/мл (n=129)	$\geq 122,8$ нг/мл (n=133)	$P_{\text{лог-ранк}}$	<131,4 нг/мл (n=140)	$\geq 131,4$ нг/мл (n=141)	$P_{\text{лог-ранк}}$
ОВ	$89,1 \pm 2,7\%$	$72,1 \pm 3,9\%$	0,0025	$87,1 \pm 2,8\%$	$60,9 \pm 4,1\%$	<0,0001
ОВК	$97,8 \pm 1,3\%$	$81,2 \pm 3,4\%$	0,0003	$94,9 \pm 1,9\%$	$69,5 \pm 3,9\%$	<0,0001
БРВ	$88,3 \pm 2,8\%$	$70,6 \pm 4,0\%$	0,0104	$67,9 \pm 3,9\%$	$40,0 \pm 4,1\%$	0,0024
ВДП	$97,4 \pm 1,4\%$	$95,2 \pm 1,9\%$	0,0468	$98,4 \pm 1,1\%$	$96,9 \pm 1,5\%$	0,2000

рецидивированию, одной из ключевых проблем при лечении данной категории пациентов является адекватная оценка риска развития рецидива. В этой связи был проведен многофакторный анализ влияния исследованных лабораторных показателей (p185, TPS, ICAM, UBC) на 5-летнюю безрецидивную выживаемость с использованием регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса (табл. 5, 6). При многофакторном анализе прогностическую значимость для безрецидивной выживаемости пациентов, страдающих немышечноинвазивным РМП, сохранил только один показатель – растворимый рецептор эпидермального фактора роста p185 ($p < 0,05$).

В группе пациентов с единичным опухолевым очагом и уровнем p185 < 4,43 нг/мл за весь период наблюдения возникло 5 рецидивов, в итоге уровень безрецидивной выживаемости составил $89,0 \pm 2,8 \%$, тогда как в группе с p185 $\geq 4,43$ нг/мл воз-

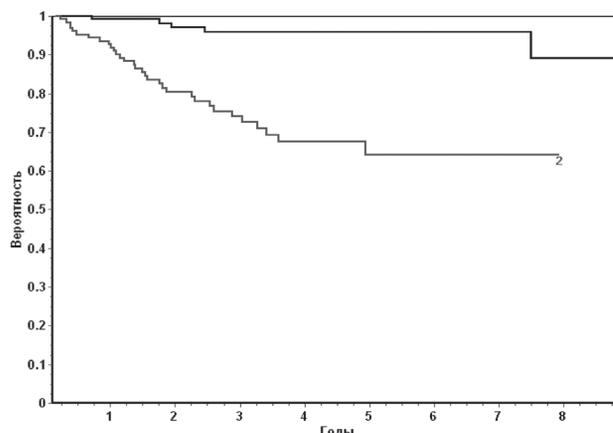


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость больных немышечно-инвазивным РМП с единичным опухолевым очагом в зависимости от уровня p185 в крови.
Примечание: 1. <4,43 нг/мл (n=125) – 5 рецидивов [$89,0 \pm 2,8 \%$];
2. $\geq 4,43$ нг/мл (n=128) – 32 рецидива [$64,1 \pm 4,2 \%$] ($p < 0,0001$)

Таблица 4

5-летняя выживаемость больных РМП в зависимости от уровня p185 в сыворотке крови

Показатели выживаемости	I группа			II группа		
	<4,43 нг/мл (n=125)	$\geq 4,43$ нг/мл (n=128)	P лог-ранк	<5,7 нг/мл (n=128)	$\geq 5,7$ нг/мл (n=134)	P лог-ранк
ОВ	$92,5 \pm 2,4 \%$	$67,2 \pm 4,2 \%$	<0,0001	$88,9 \pm 2,8 \%$	$63,2 \pm 4,2 \%$	0,001
ОВК	$98,7 \pm 1,0 \%$	$80,4 \pm 3,5 \%$	<0,0001	$97,1 \pm 1,5 \%$	$72,6 \pm 3,9 \%$	<0,0001
БРВ	$95,9 \pm 1,8 \%$	$64,1 \pm 4,2 \%$	<0,0001	$83,6 \pm 3,3 \%$	$30,0 \pm 3,9 \%$	<0,0001
ВДП	100,0 %	$91,7 \pm 2,4 \%$	0,0025	$99,2 \pm 0,1 \%$	$95,8 \pm 1,2 \%$	0,0473

Таблица 5

Регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса для безрецидивной выживаемости больных РМП с единичным опухолевым очагом

Показатель	Пропорциональный риск	p
p185 < 4,43 / p185 $\geq 4,43$	3,15	0,0380
TPS < 97,5 / TPS $\geq 97,5$	1,94	0,0665
ICAM < 122,8 / ICAM $\geq 122,8$	1,50	0,2621
UBC < 18,5 / UBC $\geq 18,5$	1,45	0,3056

Таблица 6

Регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса для безрецидивной выживаемости больных РМП с множественными опухолевыми очагами

Показатель	Пропорциональный риск	p
p185 < 5,7 / p185 $\geq 5,7$	3,18	<0,0001
UBC < 23,7 / UBC $\geq 23,7$	1,40	0,1022
ICAM < 131,5 / ICAM $\geq 131,5$	1,37	0,1373
TPS < 101,0 / TPS $\geq 101,0$	1,20	0,3723

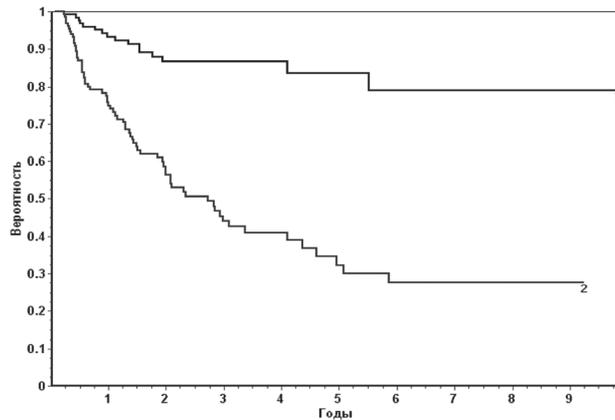


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость больных немышечно-инвазивным РМП с множественными опухолевыми очагами в зависимости от уровня p185 в крови.
Примечание: 1. $<5,7$ нг/мл ($n=128$) – 16 рецидивов [$78,9 \pm 3,6$ %];
2. $\geq 5,7$ нг/мл ($n=134$) – 69 рецидивов [$27,7 \pm 3,9$ %] ($p<0,0001$)

никло 32 рецидива и безрецидивная выживаемость составила $64,1 \pm 4,2$ % ($p<0,0001$) (рис. 1). Более выраженная зависимость безрецидивной выживаемости от уровня p185 в крови отмечена у пациентов с множественными опухолевыми очагами в мочевом пузыре (рис. 2). В группе больных с уровнем $p185<5,7$ нг/мл безрецидивная выживаемость составила $78,9 \pm 3,6$ % (16 рецидивов), у пациентов с уровнем $p185 \geq 5,7$ нг/мл (69 рецидивов) – $27,7 \pm 3,9$ % соответственно ($p<0,0001$).

Таким образом, при проведении лог-ранк теста установлена взаимосвязь уровней UBC, sICAM, TPS, p185 в биологических жидкостях с выживаемостью пациентов, страдающих раком мочевого пузыря ($p_{\text{лог-ранк}} < 0,05$). Содержание UBC в моче и sICAM в сыворотке крови влияет на общую, скорректированную, безрецидивную выживаемость пациентов РМП как с единичным опухолевым очагом, так и с множественными опухолевыми

очагами. Уровень TPS в крови оказывает влияние на те же показатели выживаемости, но только у больных с единичным опухолевым очагом. Уровень p185 в крови значимо влияет на все виды рассчитанной выживаемости пациентов, страдающих немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. Многофакторный анализ с использованием регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса выявил, что высокий уровень p185 в крови является неблагоприятным фактором прогноза безрецидивной выживаемости: при концентрации $p185<4,43$ нг/мл 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с единичным опухолевым очагом в мочевом пузыре составила 95,9 %, при $p185 \geq 4,43$ нг/мл – 64,1 %; у пациентов с множественными опухолевыми очагами при $p185<5,7$ нг/мл – 83,6 %, при $p185 \geq 5,7$ нг/мл – 30,0 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аль-Шукри С.Х., Корнеев И.А. Общие принципы лечения больных раком мочевого пузыря. Значение клинических, гистологических и биологических факторов прогноза для выбора метода лечения // Практическая онкология. 2003. Т. 4, № 4. С. 204–213.
2. Гуменецкая Ю.В., Попов А.М., Карякин О.Б. и др. Результаты комбинированного лечения (трансуретральной резекции опухоли с последующей дистанционной лучевой терапией) у больных мышечноинвазивным раком мочевого пузыря // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 2 (50). С. 6–10.
3. Державец Л.А. Значимость лабораторных показателей для определения количества опухолевых очагов у больных немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря // Современные технологии в медицине. 2012. № 3. С. 36–40.
4. Троянов А.В. Диагностика и прогнозирование рецидива немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря при помощи клинических методов и FISH-анализа // Онкоурология. 2012. № 3. С. 43–50.
5. Халмурзаев О.А., Матвеев В.Б., Петерсон С.Б. и др. Влияние повторной трансуретральной резекции на частоту рецидивов у больных немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря // Онкоурология. 2012. № 2. С. 66–71.
6. Dalbagni G. Bladder cancer: Restaging TUR reduces recurrence and progression risk // Nat. Rev. Urol. 2010. Vol. 12 (7). P. 649–650.
7. Hall C., Chang S., Dalbagni G. et al. Guideline for the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1 and Tis): 2007 update // J. Urol. 2007. Vol. 178. P. 2314–2330.
8. Sobin L.H., Gospodarowicz M.K., Wittekind Ch.E. TNM classification of malignant tumors, 7th ed. Wiley-Blackwell, Oxford, 2009. P. 310.

Поступила 24.04.13

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПИЩЕВОДА С ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Ю.В. Рудык¹, С.Г. Афанасьев¹, С.А. Тузиков^{1,2}, А.Ю. Добродеев¹,
Е.Н. Самцов¹, И.Г. Фролова¹, И.Н. Савельев¹

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹
ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск²
634028, г. Томск, ул. Савиных, 12/1, e-mail: yuri11999@gmail.com¹

Проведен анализ непосредственной и отдаленной эффективности комбинированного лечения больных раком пищевода II–III стадии с применением неoadьювантной химиотерапии. В основной группе (n=18) больным назначалось 2 курса химиотерапии по схеме гемзар + цисплатин с последующей радикальной операцией, в контрольной группе (n=20) проводилось хирургическое лечение. В результате неoadьювантного лечения непосредственная эффективность химиотерапии составила 38,9 %, полная регрессия наблюдалась у 1 (5,6 %) больного. Лечение отличалось удовлетворительной переносимостью и низкой токсичностью. Уровень послеоперационных осложнений в основной и контрольной группах значимо не отличался – 22,2 % и 25,0 % соответственно (p>0,05). Комбинированное лечение рака пищевода с применением неoadьювантной химиотерапии позволило значимо увеличить показатели двухлетней общей и безрецидивной выживаемости – 87,5 ± 8,2 % и 87,5 ± 8,2 % по сравнению с группой контроля – 63,2 ± 11,1 % и 47,4 ± 11,4 % соответственно (p<0,05).

Ключевые слова: рак пищевода, комбинированное лечение, неoadьювантная химиотерапия, непосредственные и отдаленные результаты лечения.

EFFICACY OF COMBINED MODALITY TREATMENT INCLUDING NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH ESOPHAGEAL CANCER

Yu.V. Rudyk¹, S.G. Afanasyev¹, S.A. Tuzikov^{1,2}, A.Yu. Dobrodeev¹, E.N. Samtsov¹, I.G. Frolova¹, I.N. Savelyev¹
*Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk¹,
Siberian State Medical University, Tomsk²
12/1, Savinykh Street, 634028-Tomsk, Russia, e-mail: yuri11999@gmail.com¹*

Short-and long-term results of combined modality treatment including neoadjuvant chemotherapy were analyzed in patients with stage II-III esophageal cancer. Group I patients (n=18) received 2 courses of combined gemzar/cisplatin chemotherapy followed by radical surgery. The control group patients (n=20) underwent surgery alone. In the adjuvant chemotherapy group, the rate of immediate response was 38.9 % and complete response was observed in 1 (5.6 %) patient. Treatment was well tolerated by patients. The rates of postoperative complications did not significantly differ between the groups (22.2 % and 25.0 %, respectively, p>0.05). Combined modality treatment including neoadjuvant chemotherapy provided better 2-year overall and relapse-free survival rates than surgery alone (87.5 ± 8.2 % and 87.5 ± 8.2 % compared to 63.2 ± 11.1 % and 47.4 ± 11.4 %, respectively, p<0.05).

Key words: esophageal cancer, combined modality treatment, neoadjuvant chemotherapy, short-and long-term treatment results.

В последние годы в России отмечается рост заболеваемости раком пищевода, с 2005 по 2010 г. абсолютное число вновь выявленных больных раком пищевода (РП) у мужчин выросло на 5,3 %, у женщин – на 0,4 %. Наиболее часто РП развивается в возрасте 50–60 лет, мужчины заболевают в 6,7 раза чаще. При этом, несмотря на совершенствование методов диагностики, в большинстве случаев выявляется местнораспространенный рак пищевода,

что негативно сказывается на результатах лечения. Так, в 2012 г. в нашей стране зарегистрировано 6970 первичных больных РП, из них II–III стадия процесса диагностирована в 61,2 % случаев, IV стадия – в 29,2 %, общая одногодичная летальность достигла 59,4 % [4, 5].

В России подавляющее число больных имеют плоскоклеточный рак (70–95 %). Однако в зарубежных странах, прежде всего в США и в

государствах Западной Европы, последние 10–15 лет наблюдается тенденция к росту доли аденокарцином, что большинство авторов объясняют увеличением частоты встречаемости пищевода Барретта и связывают с эпидемией ожирения и высокой заболеваемостью рефлюкс-эзофагитом. В результате в верхней и средней третях пищевода преимущественно диагностируются плоскоклеточные опухоли (56 %), а в нижней трети – аденокарцинома (43 %) [3, 6].

Лечение рака пищевода до настоящего времени остается актуальной проблемой современной онкологии. Хирургическое вмешательство остается основным эффективным методом лечения РП. Частота радикальных операций пищевода при выполнении трансторакальной эзофагэктомии составляет 60–90 %, послеоперационная летальность – 1,5–23 %. Результаты хирургического лечения в первую очередь зависят от распространенности опухолевого процесса, наличие регионарных метастазов снижает 5-летнюю выживаемость с 40–45 % до 10–25 %, а при выходе опухоли за пределы стенки органа ни один больной не доживает до 5 лет после оперативного лечения [2, 8].

Представленные данные свидетельствуют о том, что рассчитывать на улучшение результатов лечения рака пищевода возможно за счет комбинированного лечения с применением различных вариантов неoadъювантной терапии. Основной целью предоперационной химиотерапии при операбельном РП являются уменьшение размеров опухоли и создание условий для выполнения операции меньшего объема, а также воздействие на первичный очаг и микрометастазы для улучшения прогноза заболевания [7]. При раке пищевода наиболее часто используются 5-фторурацил, паклитаксел, иринотекан в комбинации с препаратами платины, при этом лечебные эффекты регистрируются у 44–55 % больных. Причем частота опухолевой регрессии не зависит от гистотипа опухоли. По данным М.И. Давыдова с соавт. [2], при проведении предоперационной химиотерапии по схеме FLEP (5-фторурацил, этопозид, цисплатин, лейковорин) у большинства больных отмечалась полная и частичная регрессия опухоли (80,6 %), что позволило повысить частоту радикальных резекций (R0) до 86,7 %, в контрольной группе – 63,6 %, без увеличения послеоперационной летальности. Представляет интерес мета-анализ, в котором сравнивается

эффективность предоперационной химиотерапии и оперативного лечения в самостоятельном варианте у 2051 больного раком пищевода [11]. В группах предоперационной химиотерапии в разных исследованиях частота объективного эффекта колебалась от 15 до 60 %, а полная регрессия опухоли, подтвержденная морфологически, отмечена у 4–7 % больных, что сочеталось с достоверным увеличением продолжительности жизни. Таким образом, на основании вышеизложенного представляется крайне актуальным развитие комбинированных методов лечения местнораспространенного рака пищевода за счет использования системных видов противоопухолевого воздействия.

Цель исследования – изучить эффективность и переносимость комбинированного лечения рака пищевода с использованием неoadъювантной химиотерапии и радикальной операции.

Материал и методы

В торакоабдоминальном отделении ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН проведено лечение 38 больных раком пищевода II–III стадии с морфологически верифицированным диагнозом. Основную группу составили 18 больных, у которых было проведено комбинированное лечение, включающее 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин и радикальную операцию. Контрольную группу составили 20 больных, которым выполнялась радикальная операция. Распределение больных по группам проводилось методом «случай-контроль».

Наибольшее число больных было в возрасте от 55 до 65 лет (88,5 %). Соотношение заболевших мужчин и женщин составило 6:1. В основной и контрольной группах наиболее часто отмечалось поражение среднегрудного отдела пищевода – 18 (47,4 %), затем нижнегрудного – 11 (28,9 %) и абдоминального отдела пищевода – 9 (23,7 %) (табл. 1). Окончательная стадия заболевания устанавливалась после операции в соответствии с классификацией Международного противоракового союза по системе TNM: IA стадия – 9 (23,7 %), IB стадия – 12 (31,6 %), III стадия – 17 (44,7 %) больных (табл. 1). По гистологической структуре преобладал плоскоклеточный рак – 35 (92,1 %), аденокарцинома – 3 (7,9 %). Необходимо отметить, что аденокарцинома во всех случаях выявлялась в абдоминальном отделе пищевода. По основным прогностическим признакам группы были сопоставимы.

ставимы. Имеющиеся различия в группах были статистически не значимы, что позволило провести сравнительный анализ результатов лечения.

Больным основной группы на первом этапе комбинированного лечения проводилось 2 курса неoadьювантной химиотерапии (НАХТ) по схеме гемцитабин – 1250 мг/м² в/в в 1-й и 8-й дни, цисплатин – 80 мг/м² в/в в 1-й день. Интервал между курсами химиотерапии и хирургическим лечением составлял 3–4 нед. Далее у всех больных в основной и контрольной группах выполнялась радикальная операция – расширенная субтотальная резекция пищевода с 2-зональной (2F) лимфодиссекцией из комбинированного лапаротомного и правостороннего торакотомного доступа с одномоментной эзофагопластикой. При выполнении реконструктивного этапа операции выбор метода пластики зависел от уровня поражения и резекции пищевода, а также индивидуальных особенностей больного. Наиболее часто использовался широкий желудочный стебель (операция типа Льюиса) – 27 (71,0 %), значительно реже изоперистальтическая пластика проводилась левой половиной толстой кишки – 8 (21,1 %) или тонкой кишкой – 3 (7,9 %) (табл. 2).

Непосредственный объективный ответ опухоли на проведение НАХТ определялся по шкале

RECIST, токсичность химиотерапии – по шкале CTC-NCIC. Для изучения особенностей течения послеоперационного периода использовался комплекс инструментальных исследований, клинических данных и лабораторных показателей. Для статистического анализа применялись стандартные методы медико-биологической статистики. Сравнительный анализ проводился с использованием критерия Стьюдента (t). Оценка эффективности методов лечения дана на основании изучения сроков и частоты появления рецидивов и метастазов. Кривые наблюдаемой 2-летней выживаемости строились по методу Каплана – Майера. Значимость различий в выживаемости между группами оценена по F-критерию Кокса.

Результаты и обсуждение

В основной группе непосредственная общая эффективность НАХТ по схеме гемцитабин/цисплатин составила 38,9 %, из них частичная регрессия – 6 (33,3 %) больных, полная регрессия – 1 (5,6 %) больной. Стабилизация процесса была самой частой формой ответа опухоли на химиотерапию, она зафиксирована в 9 (50,0 %) случаях, прогрессирование опухолевого процесса наблюдалось у 2 (11,1 %) больных. Следует отметить, что гистотип опухоли у больных с прогрессированием в 1 случае был представлен аденокарциномой, в

Таблица 1

Характеристика групп больных

Параметры	НАХТ + операция (n=18)	Операция (n=20)	Всего (n=38)
Локализация опухоли			
Среднегрудной отдел	9 (50,0 %)	9 (45,0 %)	18 (47,4 %)
Нижнегрудной отдел	5 (27,8 %)	6 (30,0 %)	11 (28,9 %)
Абдоминальный отдел	4 (22,2 %)	5 (25,0 %)	9 (23,7 %)
Стадия процесса			
ПА (T ₂₋₃ N ₀ M ₀)	4 (22,2 %)	5 (25,0 %)	9 (23,7 %)
ПВ (T ₁₋₂ N ₁ M ₀)	5 (27,8 %)	7 (35,0 %)	12 (31,6 %)
III (T ₃₋₄ N ₁₋₂ M ₀ , T ₄ N _{люб} M ₀)	9 (50,0 %)	8 (40,0 %)	17 (44,7 %)
Гистотип опухоли			
Плоскоклеточный рак	17 (94,4 %)	18 (90,0 %)	35 (92,1 %)
Аденокарцинома	1 (5,6 %)	2 (10,0 %)	3 (7,9 %)

Таблица 2

Методика эзофагопластики в сравниваемых группах

Метод эзофагопластики	НАХТ + операция (n=18)	Операция (n=20)	Всего (n=38)
Желудочным стеблем	14 (77,8 %)	13 (65,0 %)	27 (71,0 %)
Толстой кишкой	3 (16,7 %)	5 (25,0 %)	8 (21,1 %)
Тонкой кишкой	1 (5,5 %)	2 (10,0 %)	3 (7,9 %)

1 случае – низкодифференцированным плоскоклеточным раком. По данным литературы [3, 10, 12, 13], при проведении химиотерапии по поводу рака пищевода показатели общей эффективности варьируют в пределах 37,1–80,6 %, что в целом согласуется с результатами, полученными в нашем исследовании.

Из непосредственных побочных реакций химиотерапии наиболее часто встречалась тошнота/рвота – 10 (55,5 %) случаев. Гематологическая токсичность была представлена тромбоцитопенией в 9 (50,0 %) случаях, в том числе I–II степени – в 7 (38,9 %), III степени – в 2 (11,1 %) и лейкопенией I–II степени – в 4 (22,2 %). Из негематологических осложнений чаще регистрировалась нефротоксичность – 4 (22,2 %) случая. Аллергические реакции зафиксированы у 8 (44,4 %) больных. Таким образом, при проведении химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин отмечен приемлемый профиль токсичности, удовлетворительная переносимость и безопасность данной комбинации. Развившиеся осложнения носили кратковременный, нестойкий характер и достаточно хорошо купировались назначением симптоматической терапии, что согласуется с данными литературы [12, 13].

Несмотря на то, что в основной группе хирургическое лечение проводилось после НАХТ, интраоперационных осложнений в сравниваемых группах не было. Значительное внимание уделялось особенностям течения послеоперационного периода. В среднем послеоперационный период в обеих группах длился 12–14 сут. Нахождение в отделении интенсивной терапии, как правило, не превышало 5 сут. Отделяемое по дренажам из плевральной и брюшной полости (200–250 мл) носило серозно-геморрагический характер и наблюдалось

в течение 2–3 сут. Гематологических особенностей в сравниваемых группах отмечено не было.

В оценке непосредственных результатов комбинированного лечения больных раком пищевода важным критерием является характеристика послеоперационных осложнений и летальности. Количество послеоперационных осложнений в основной группе (22,2 %) значимо не отличалось от группы контроля (25,0 %) ($p > 0,05$). Следует отметить, что общее количество осложнений превышало общее число больных, так как у некоторых больных развилось несколько осложнений (табл. 3).

При анализе структуры осложнений отмечено, что наиболее грозными осложнениями являлись недостаточность внутригрудного анастомоза или нарушения трофики интраоракальных трансплантатов с последующим частичным и/или тотальным некрозом, в 3 (7,9 %) случаях это привело к развитию эмпиемы плевры на стороне поражения (табл. 3). Эти неблагоприятные явления мы связываем, в первую очередь, с нарушением микроциркуляции в трансплантате, что служило причиной возникновения острых трофических эрозий и язв в трансплантате. Этим больным ($n=5$) потребовалось повторное оперативное вмешательство с целью санации плевральной полости и дополнительного дренирования, 3 случая были купированы, 2 больных (по одному в каждой группе) погибли от развившихся осложнений. В итоге послеоперационная летальность в основной группе составила 11,1 %, умерло 2 больных (второй пациент скончался от сердечно-сосудистой недостаточности, обусловленной сопутствующей кардиальной патологией), в контрольной – 5,0 % (умер 1 больной). Статистически значимых различий в сравниваемых группах не отмечено ($p > 0,05$). При анализе особенностей

Таблица 3

Частота и характер послеоперационных осложнений

Послеоперационные осложнения	НАХТ + операция ($n=18$)	Операция ($n=20$)
Больных с осложнениями	4 (22,2 %)	5 (25,0 %)
Недостаточность внутригрудного анастомоза	-	1 (5,0 %)
Апикальный некроз тонкокишечного трансплантата	1 (5,5 %)	1 (5,0 %)
Острая перфоративная язва гастротрансплантата	-	1 (5,0 %)
Некроз гастротрансплантата	1 (5,5 %)	-
Эмпиема плевры	1 (5,5 %)	2 (10,0 %)
Послеоперационная пневмония	2 (11,1 %)	2 (10,0 %)
Острая сердечно-сосудистая недостаточность	1 (5,5 %)	-
Нагноение раны	1 (5,5 %)	1 (5,0 %)

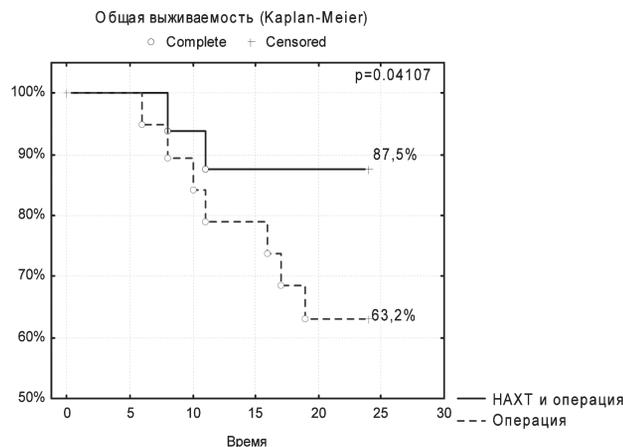


Рис. 1. Показатели общей 2-летней выживаемости больных раком пищевода II–III стадии в зависимости от метода лечения

послеоперационного периода в зависимости от способа эзофагопластики обращает на себя внимание высокий уровень апикальных некрозов тонкокишечного трансплантата, которые возникли в 2 из 3 выполненных операций. В дальнейшем мы отказались от подобных вмешательств в пользу гастро- или колоэзофагопластики, что позитивно сказалось на результатах оперативного этапа лечения. В целом полученные непосредственные результаты соответствуют литературным данным о частоте послеоперационных осложнений и летальности в России и за рубежом и находятся в рамках среднестатистического показателя [1, 6, 11].

Одним из важнейших критериев эффективности проводимого лечения больных раком пищевода являются частота и сроки появления рецидивов и метастазов. Прослежены двухлетние результаты у 35 из 38 больных, получивших лечение, в основной группе – у 16 из 18 больных, в контрольной – у 19 из 20. В основной группе прогрессирование заболевания выявлено в 2 (12,5 %) случаях, оно было обусловлено отдаленным метастазированием в печень и легкие. Оба пациента умерли в течение первого года наблюдения. Длительность безрецидивного периода составила 21,9 мес. В контрольной группе прогрессирование опухолевого процесса выявлено у 10 (52,6 %) больных: в 3 случаях (15,8 %) за счет местных рецидивов, в 7 (36,8 %) – обнаружены отдаленные метастазы. Длительность безрецидивного периода – 18,7 мес. В результате прогрессирования в первый

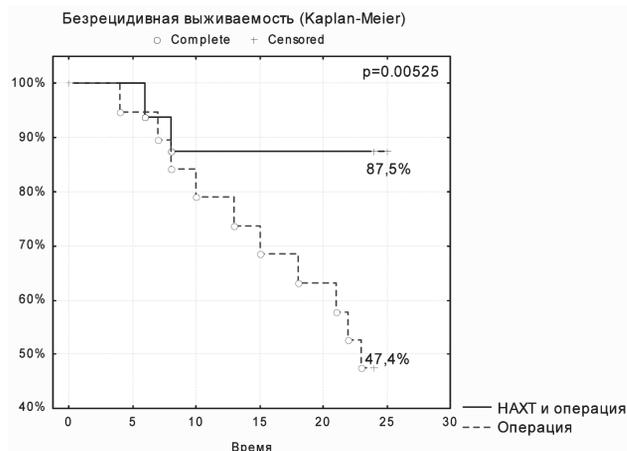


Рис. 2. Показатели безрецидивной 2-летней выживаемости больных раком пищевода II–III стадии в зависимости от метода лечения

год наблюдения умерло 4 больных, во 2-й год – 3 больных. В итоге, общая 2-летняя выживаемость больных раком пищевода II–III стадии в основной и контрольной группах составила $87,5 \pm 8,2$ % и $63,2 \pm 11,1$ % (рис. 1), безрецидивная выживаемость – $87,5 \pm 8,2$ % и $47,4 \pm 11,4$ % (рис. 2) соответственно. Различия статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом, накопленный опыт в НИИ онкологии СО РАМН показал, что комбинированное лечение больных раком пищевода II–III стадии с применением НАХТ по схеме гемцитабин/цисплатин и радикальной операции при удовлетворительной переносимости обеспечивает надежный локорегионарный контроль и сводит к минимуму количество отдаленных метастазов. Результаты хирургического лечения, полученные в нашем исследовании и по данным разных авторов [2, 6, 9], свидетельствуют о том, что в настоящее время, несмотря на развитие хирургической техники и совершенствование анестезиологического обеспечения, выполнение только одной радикальной операции у больных раком пищевода является недостаточным. Применение НАХТ с использованием противоопухолевых препаратов (гемцитабин и цисплатин) позволило получить общую непосредственную эффективность в 38,9 %. При этом наблюдаются приемлемый профиль токсичности и удовлетворительная переносимость химиотерапии. После проведения НАХТ хирургический этап лечения был реализован у всех больных раком пи-

шевода в запланированном объеме, что обеспечило обнадеживающие результаты.

Заключение

При раке пищевода II–III стадии проведение комбинированного лечения с неоадьювантной химиотерапией и радикальной операцией позволяет значительно увеличить двухлетнюю общую выживаемость (87,5 %) относительно только хирургического лечения (63,2 %) ($p < 0,05$). Неоадьювантная химиотерапия по схеме гемцитабин/цисплатин показала высокую непосредственную эффективность (38,9 %) и в комбинации с хирургическим лечением повысила эффективность локорегионарного контроля и обеспечила профилактику отдаленного метастазирования, однако отдаленные результаты требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова Е.Э., Вашакмадзе Л.А., Хомяков В.М., Мамонтов А.С. Ускоренная госпитальная реабилитация больных после расширенно-комбинированных операций по поводу рака грудного отдела пищевода и кардии // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 1 (55). С. 52–58.
2. Давыдов М.И., Стилиди И.С., Бохан В.Ю. и др. Промежуточные результаты применения предоперационной химиотерапии и расширенной субтотальной резекции пищевода при раке // Анналы хирургии. 2005. № 3. С. 27–32.
3. Денъгина Н.В. Современные терапевтические возможности при раке пищевода // Практическая онкология. 2012. Т. 13, № 4. С. 276–288.
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2013. 232 с.
5. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2010 г. / Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. М., 2012. 308 с.
6. Стилиди И.С., Бохан В.Ю., Тер-Ованесов М.Д. Результаты и перспективы хирургического лечения больных раком грудного отдела пищевода // Практическая онкология. 2003. Т. 4, № 2. С. 70–75.
7. Толяндин С.А. Рациональная тактика лечения операбельного рака пищевода // Материалы X Российской онкологической конференции. М., 2006. С. 85–87.
8. Scheer R.V., Fakiris A.J., Johnstone P.A. Quantifying the benefit of a pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiotherapy in the treatment of esophageal cancer // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2011. 2001. Vol. 80 (4). P. 996–1001.
9. Kelsen D.P., Ginsberg R., Pajak T.F. et al. Chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for localized esophageal cancer // N. Engl. J. Med. 1998. Vol. 339. P. 1979–1980.
10. Liu A.N., Huang J., Cai R.G. et al. Responses of advanced esophageal cancer to chemotherapy and prognostic factors: a report of 138 cases // Ai Zheng. 2008. Vol. 27 (4). P. 400–406.
11. Malthaner R., Fenlon D. Preoperative chemotherapy for respectable thoracic esophageal cancer (Cochrane Review) // Cochrane Database Syst Rev. 2006. Vol. 3. CD. 001556.
12. Millar J., Scullin P., Morrison A. et al. Phase II study of gemcitabine and cisplatin in locally advanced/metastatic oesophageal cancer // Br. J. Cancer. 2005. Vol. 93 (10). P. 1112–1116.
13. Wang M., Gu J., Wang H.X. et al. Retrospective study of gemcitabine based chemotherapy for unresectable or recurrent esophagus squamous cell carcinoma refractory to first line chemotherapy // Asian Pac. J. Cancer Prev. 2012. Vol. 13 (8). P. 4153–4156.

Поступила 10.01.13

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

Г.И. Гафтон^{1,4}, Ю.В. Семилетова^{1,2}, В.В. Анисимов¹, М.Л. Гельфонд^{1,2},
М.Ю. Мяснянкин², А.В. Новик^{1,3}, Т.Л. Нехаева¹, И.А. Балдуева^{1,2}, И.Г. Гафтон¹

*ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург¹
ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург²
ГБОУ ВПО «СПбГПМУ» Минздрава России, г. Санкт-Петербург³
ГБОУ ВПО «СПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург⁴
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68,
e-mail: doc-tor@mail.ru¹*

В экспериментально-клиническом исследовании изучено влияние неoadъювантной фотодинамической терапии на показатели Т- и В-клеточного иммунного ответа в хирургическом лечении больных меланомой кожи I–III стадии. ФДТ была выполнена 25 пациентам за 2 сут до хирургического удаления первичной опухоли с июля 2012 г. по январь 2013 г. Выявлено, что увеличение концентрации фотодитазина не приводит к увеличению количества опухолевых клеток на стадии раннего апоптоза; удлинение времени экспозиции приводит к увеличению доли поздних форм апоптоза, а использование ФДТ с фотодитазинном в дозе 50,0 мг с последующим облучением (662 нм, 400 Дж) за 2 дня до хирургического вмешательства способствует активации Т- и В-клеточного звена иммунной системы.

Ключевые слова: первичная меланома, неoadъювантная ФДТ, апоптоз, иммунный ответ.

PHOTODYNAMIC THERAPY IN SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS BY A SKIN MELANOMA

G.I. Gafton^{1,4}, Yu.V. Semiletova^{1,2}, V.V. Anisimov¹, M.L. Gelfond^{1,2}, M.Yu. Myasnyankin², A.B. Novick^{1,3},
T.L. Nekhayeva¹, I.A. Balduyeva^{1,2}, I. G. Gafton¹

*N.N. Petrov Oncology scientific research institute of Ministry Health of Russia, St. Petersburg¹,
SZGMU of I.I. Mechnikov of Ministry of Health of Russia, St. Petersburg²,
SPBGPMA of Ministry Health of Russia, St. Petersburg³,
SPBGMU of I.P. Pavlov of Ministry Health of Russia, St. Petersburg⁴
68, Leningradskaya Street, 197758-St. Petersburg, Pesochny, Russia
e-mail: doc-tor@mail.ru¹*

In experimental and clinical research carried out studying of influence of neoadjuvant photodynamic therapy on T- and B-cellular immune answer in surgical treatment of patients of a melanoma of skin of the I–III stage. PDT was executed to 25 patients two days prior to surgical removal of primary tumor from July, 2012 to January, 2013. As a result of the conducted research it was revealed that: the increase in concentration fotoditaziny doesn't lead to increase in quantity of tumoral cages at stages early apoptosis; lengthening of time of an exposition leads to increase in a share of late forms apoptosis, and FDT use with fotoditaziny in a dose of 50,0 mg with the subsequent radiation (662 nanometers, 400 J) in 2 days prior to surgical intervention promotes T- and B-cellular link of immune system.

Key words: Primary melanoma, neoadjuvant PDT, apoptosis, immune response.

Лечение больных диссеминированной меланомой кожи с использованием во второй и последующих линиях лекарственной терапии представляет собой клинически важную и до настоящего времени практически не решенную задачу. Увеличение показателей заболеваемости населения меланомой кожи, а также наличие у значительной части больных «скрытых» микрометастазов до хирургического лечения определяют необходимость поиска

новых методов системного неoadъювантного лечения. В этом плане перспективным представляется использование неoadъювантной фотодинамической терапии (ФДТ) у больных с I–III стадией меланомы кожи. ФДТ – относительно новый способ лечения солидных опухолей, он зарекомендовал себя в лечении местнораспространенного рака трахеи и бронхов, пищевода, мочевого пузыря и рака шейки матки [4, 6, 8, 9, 11].

Недавние исследования показали, что ФДТ может являться «пусковым» механизмом в активации противоопухолевого иммунного ответа, связанного с усилением процесса апоптоза опухолевых клеток, а также с развитием острой воспалительной реакции и распознаванием CD8⁺ Т-лимфоцитами МНС I (МНС I – Major histocompatibility complex I) рестриктированных эпитопов опухолеассоциированных антигенов (ОАА) [1, 7, 10, 14]. Кроме того, ФДТ приводит к субклеточной гибели опухолевых клеток, которые фагоцитируются, процессируются и презентуются макрофагами и дендритными клетками «наивным» Т-лимфоцитам в лимфатических узлах [12, 13]. Уникальность метода заключается в избирательной способности опухоли накапливать фотосенсибилизатор (ФС). После облучения патологического очага светом, имеющим длину волны, соответствующую спектру поглощения ФС, запускается фотохимическая реакция с генерацией синглетного кислорода, который повреждает мембраны и органеллы опухолевых клеток и вызывает их гибель [5, 8, 10]. Однако этот процесс часто оказывается малоэффективным. Более того, ФДТ как способ лечения меланомы кожи до настоящего времени остается официально не признанным. Одни авторы связывают это с опухолеассоциированной иммуносупрессией и дисфункцией антигенпрезентирующих клеток [2, 13], другие – с недостаточным накоплением фотосенсибилизирующих препаратов в опухоли, что ставит под сомнение возможность развития достаточных фотодинамических эффектов. Кроме того, отдельные авторы описывают лишь частичную регрессию опухоли при ФДТ [3].

Целью исследования явилось изучение влияния неадьювантной ФДТ на показатели Т- и В-клеточного иммунного ответа в хирургическом лечении больных меланомой кожи I–III стадии.

Материал и методы

В соответствии с задачами исследования работа была разделена на две части – экспериментальную и клиническую. Для экспериментального исследования *in vitro* использовали клеточную линию меланомы кожи человека (Mel 226), полученную в лаборатории клеточных технологий отделения химиотерапии и инновационных клеточных технологий НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова и депонированную в Российском Банке клеточных линий позвоночных. Фотосенсибилизатор добавляли в

разных концентрациях: 1) 0,5 мкг/мл, 2) 1 мкг/мл (эквивалент дозе 1 мг/кг, рекомендованной в инструкции по применению ФС), 3) 2,5 мкг/мл. Через 30 мин проводили облучение клеток меланомы лазерным светом 662 нм, 40 Дж (доза для культуры опухолевых клеток, эквивалентная используемой в клинической практике), экспозиция 6 и 10 мин. Анализ проводили через 1 и 4 ч после фотодинамического воздействия. К полученной суспензии клеток (1×10⁶/мл) добавляли аннексин V-FITC (Annexin V-FITC, FITC (Fluorescein Isothiocyanate)) («BD», USA) и пропидиум йодид (PI (Propidium Iodide)) («BD», USA), инкубировали 15 мин в темноте, при комнатной температуре. Подсчет клеток проводили с использованием флуоресцентного микроскопа («Carl Zeiss», Германия). Уровень апоптоза оценивали по апоптотическому индексу (АИ) [1]. Данный параметр характеризует относительное число клеток с характерными морфологическими или биохимическими признаками и определяется по формуле

$$\text{АИ} = \frac{\text{Кол-во апоптотических клеток}}{\text{Общее кол-во клеток}} \times 100 \%$$

АИ учитывали отдельно для всех анализируемых клеток: с зеленым окрашиванием клетки, находящиеся на стадии раннего апоптоза (Annexin +; PI-), клетки с двойным окрашиванием (Annexin +; PI+) – стадия позднего апоптоза. В клиническое исследование были включены больные, получавшие лечение в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с июля 2012 г. по январь 2013 г.

Критериями включения в исследование были: подписание письменного информированного согласия, мужчины или женщины старше 18 лет, гистологически верифицированный диагноз меланомы кожи I–III стадии заболевания, установленный на основании клинико-инструментальных и лабораторных исследований, удовлетворительное состояние больных (0–2 балла по шкале ECOG), отсутствие предшествующей противоопухолевой терапии, гематологические показатели: количество лейкоцитов > 3000/мм³, тромбоцитов >120000/мм³, гемоглобин >100 г/л, сохранная функция печени и почек (трансаминазы <5N, креатинин <176 мкмоль/мл, общий билирубин <30 мкмоль/л).

Критерии не включения в исследование: беременность и лактация, недостаточность кро-

вообращения 2–3-й степени, дыхательная недостаточность 2–3-й степени, клинически значимая патология печени, почек, наличие метастазов или резидуальной опухоли, острые инфекционные заболевания, аутоиммунные заболевания в стадии обострения (кроме витилиго), одновременное включение в другое клиническое исследование с другим исследуемым препаратом. Схема исследования представлена на рис. 1.

Всем больным проводился забор крови для оценки содержания основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови до лечения и через 7 дней после операции. Иммунофенотипический анализ проводили на проточном лазерном цитофлуориметре BD FACSCalibur (tm) (BD Biosciense). Для окрашивания клеток использовали панель моноклональных антител меченых FITC (изоцианиат флуоресцеина, PE (фикоэритрин), PC5 (комплекс PE с цианином-5), PerCP (перидинилхлорофилл протеин) или PerCP-Cy5.5 (комплекс PerCP с цианином 5.5) к белкам-маркерам (CD) клеточной мембраны лейкоцитов. Проводили регистрацию прямого светорассеяния (под углами 1–10°), бокового светорассеяния (под углом 90°). Для каждого образца анализировали не менее 10⁵ клеток. Для оценки данных иммунофенотипического анализа использовали программное обеспечение CellQuest Pro (tm).

Хирургическое лечение больных (1-я группа) проводили по стандартной методике в объеме радикальной операции. Второй группе пациентов за 2 дня до хирургического лечения проводили ФДТ отечественным ФС второго поколения – диметилглюкаминовая соль хлорина Е6 (фотодитазин, реги-



Рис. 1. Схема исследования (ИС – иммунный статус)

страционный номер № 249188), 50 мг внутривенно капельно в течение 30 мин в 200 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Через 2 ч после этого проводили лазерное облучение опухолевого очага (662 нм, 400 Дж). С начала введения и в последующие 24 ч пациенты носили солнцезащитные очки.

В исследование включено 25 больных локализованной меланомой кожи (табл. 1). Пациенты в сравниваемых группах были сопоставимы по возрасту и полу, а также по стадиям заболевания.

При анализе субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток учитывали абсолютное содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), двойных положительных Т-клеток (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺CD3⁻), активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA DR⁺).

В исследование также были включены 4 больных с интраоперационной ФДТ: I стадия болезни по TNM (7-й пересмотр) – 1 больной, II стадия – 1 пациент, III стадия – 2 больных. ФС вводили за 2 ч до оперативного вмешательства, лазерное облучение проводили после удаления локализованной опухоли и/или метастатического поражения регионарных лимфатических узлов в течение 30 мин. Иммунокомпетентные клетки изучали по

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Характеристика	1-я группа (n=9)		2-я группа (n=16)		Всего (n=25)	
	абс.	% (ДИ)	абс.	% (ДИ)	абс.	%
Возраст:	54		53		56	
- средний	39–87		34–85		34–87	
Пол:						
- мужчины	4	44 (12–77)	3	19 (4–41)	7	28 (10–46)
- женщины	5	56 (23–88)	13	81 (59–96)	18	72 (54–90)
Стадия:						
I	5	56 (23–88)	10	63 (39–86)	15	60 (41–79)
II	2	22 (3–53)	6	37 (14–61)	8	32 (14–50)
III	2	22 (3–53)	0	0 (0–6)	2	8 (1–22)

экспрессии дифференцировочных антигенов, описанных выше.

Для статистической обработки полученных данных использовали методы описательной статистики: расчет 95 % доверительного интервала (ДИ) для АИ и критерий знаков Уилкоксона для зависимых наблюдений. Расчеты проводили с использованием программы SPSS v.17. В исследовании был принят уровень значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследование показало, что концентрации ФС 0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл и 2,5 мкг/мл обладают сопоставимой способностью индуцировать ранний апоптоз, статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). При увеличении времени облучения ФДТ сенсibilизированного опухолевого очага происходит более быстрый переход опухолевых клеток в позднюю фазу апоптоза ($p < 0,05$). Содержание основных субпопуляций лимфоцитов до и после хирургического лечения представлено в табл. 2. У больных 1-й группы хирургическое вмешательство приводило к повышению абсолютного содержания $CD3^+ CD19^-$ Т-лимфоцитов ($p = 0,036$), однако субпопуляционный состав Т-клеток (содержание Т-хелперов ($CD3^+ CD4^+$), активированных Т-хелперов ($CD3^+ CD4^+ HLADR^+$), двойных положительных Т-лимфоцитов ($CD3^+ CD4^+ CD8^+$), Т-эффекторов ($CD3^+ CD8^+$) и число В-лимфоцитов ($CD19^+ CD3^-$) не претерпели значимых изменений ($p > 0,05$).

При добавлении к хирургическому лечению неoadъювантной ФДТ (2-я группа больных) выявлено статистически значимое повышение содержания $CD3^+ CD4^+$ Т-хелперов ($p = 0,02$), активированных $CD3^+ CD4^+ HLADR^+$ Т-хелперов ($p = 0,05$), $CD3^- CD19^+$ В-лимфоцитов ($p = 0,02$), что свидетельствует об активации Т- и В-клеточного звена иммунной системы.

У больных, получавших хирургическое лечение и интраоперационную ФДТ (3-я группа), значимые различия не были выявлены ($p > 0,05$), не исключено, что это объясняется недостаточной мощностью исследования ($n = 4$).

Механизм действия ФДТ основан на избирательном накоплении фотосенсибилизатора в опухолевой ткани. Молекулы ФС избирательно фиксируются на мембранах опухолевых клеток и митохондриях, при облучении опухоли лазером происходит переход нетоксичного триплетного кислорода в синглетный кислород, обладающий выраженным цитотоксическим действием, что приводит к разрушению мембран опухолевых клеток. Ряд биомолекул, входящих в состав мембран (ненасыщенные жирные кислоты, холестерин, триптофан, метионин, гистидин), быстро вступают в реакцию с синглетным кислородом, поэтому мембраны считаются первичными мишенями, повреждение которых ведет к повреждению и гибели клеток, через механизмы апоптоза, важную роль в котором играет фосфатидилсерин (выявляется с помощью

Таблица 2

Содержание основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови больных локализованной меланомой кожи до лечения и на 7-й день после операции ($M \pm m$)

Дифференцировочные антигены (лимфоцитарный гейт)	Группа	До операции	После операции	p
$CD3^+ CD19^-$	ФДТ(-)	1,32 ± 0,16	1,50 ± 0,6	0,036
	ФДТ(+)	1,2 ± 0,09	1,3 ± 0,4	0,18
$CD3^+ CD4^+$	ФДТ(-)	0,83 ± 0,1	0,95 ± 0,4	0,092
	ФДТ(+)	0,72 ± 0,05	0,91 ± 0,3	0,02
$CD3^+ CD8^+$	ФДТ(-)	0,46 ± 0,09	0,48 ± 0,24	0,263
	ФДТ(+)	0,47 ± 0,06	0,47 ± 0,2	0,19
$CD3^+ CD4^+ CD8^+$	ФДТ(-)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,063
	ФДТ(+)	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,04	0,75
$CD3^- CD19^+$	ФДТ(-)	0,18 ± 0,04	0,23 ± 0,1	0,31
	ФДТ(+)	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,08	0,02
$CD3^+ CD4^+ HLADR^+$	ФДТ(-)	-	-	-
	ФДТ(+)	0,03 ± 0,004	0,05 ± 0,009	0,05

белка аннексина V-FITC). В процессе нахождения клеток в апоптозе наблюдаются усиление экспрессии ОАА и активация иммунного ответа.

В нашем исследовании показано, что ФД-воздействие с низкой мощностью приводит к иммуностимулирующему эффекту, и дальнейшее увеличение концентрации ФС и удлинение времени облучения не имеют значения. Вследствие этого в клинической практике возможно снижение дозы ФД в 2 раза, что позволяет снизить токсичность лечения.

Фотодинамическая терапия действует как локальная травма для биологического объекта, вызывая хемотаксис нейтрофилов и активацию С3 компонента комплемента. В результате опухолевая ткань инфильтрируется нейтрофилами, под влиянием ряда цитокинов запускаются каскады иммунных реакций, стимулируется неспецифический и специфический иммунный ответ. При анализе результатов лабораторных тестов иммунологического обследования больных, получавших хирургическое лечение, отмечалась активация Т-лимфоцитов ($CD3^+ CD19^-$), при этом содержание Т-хелперов ($CD3^+ CD4^+$), активированных Т-хелперов ($CD3^+ CD4^+ HLADR^+$), цитотоксических Т-эффекторов ($CD3^+ CD8^+$), двойных положительных Т-лимфоцитов ($CD3^+ CD4^+ CD8^+$), В-лимфоцитов ($CD19^+ CD3^-$) не менялось. Напротив, неоадьювантная ФДТ активирует Т-клеточное звено иммунной системы (увеличение абсолютного содержания Т-хелперов $CD3^+ CD4^+$) и В-клеточное звено (повышение числа $CD19^+ CD3^-$). Отмечается тенденция к увеличению содержания активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+ CD4^+ HLADR^+$). Таким образом, наблюдается отчетливая активация как Т-клеточного, так и В-клеточного звена иммунной системы. Вероятнее всего, это происходит вследствие апоптоза, который запускает выраженный противоопухолевый иммунный ответ [7, 11, 14].

Таким образом, проведенное экспериментальное и клиническое исследование позволило сформулировать следующие выводы:

1. Увеличение концентрации фотодитазина не приводит к увеличению количества опухолевых

клеток на стадии раннего апоптоза (Annexin+; PI-), $p > 0,05$.

2. Удлинение времени экспозиции облучения приводит к увеличению доли поздних форм апоптоза (Annexin +; PI+), $p < 0,05$.

3. Использование ФДТ с фотодитазином в дозе 50,0 мг с последующим облучением (662 нм, 400 Дж) за 2 дня до хирургического вмешательства способствует активации Т- и В-клеточного звена иммунной системы ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Балдуева И.А. Иммунологические особенности взаимоотношения опухоли и организма при меланоме // Практическая онкология. 2001. № 4 (8). С. 37–41.
2. Васильев Н.Е. Иммунологические аспекты фотодинамической терапии // Материалы научно-практической конф. «Применение полупроводниковых лазеров в медицине». СПб., 2006. С. 62.
3. Гейниц А.В., Сорокатый А.Е., Язудаев Д.М., Трухманов Р.С. Фотодинамическая терапия. История создания метода и ее механизмы // Лазерная медицина. 2007. Т. 11, вып. 3. С. 42–46.
4. Гельфонд М.Л., Арсеньев А.И., Барчук А.С. Фотодинамическая терапия с Фотодитазином в комбинированном лечении трахеобронхиального рака и рака пищевода // Российский биотерапевтический журнал. 2004. Т. 3, № 2. С. 49–50.
5. Красновский А.А. Фотодинамическое действие и синглетный кислород // Биофизика. 2004. Т. 49, № 2. С. 305–321.
6. Филоненко Е.В., Вашихмадзе Л.А., Кириллов Н.В., Хомяков В.М. Интраоперационная фотодинамическая терапия в хирургическом лечении рака желудка. (Обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 2 (50). С. 84–89.
7. Bracketta C.M., Gollnick S.O. Photodynamic Therapy Enhancement of Anti-Tumor // Immunity Photochem. Photobiol. Sci. 2011. Vol. 10 (5). P. 649–652.
8. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W. et al. Photodynamic therapy // J. Natl. Cancer Inst. 1998. Vol. 90. P. 889–905.
9. Foroulis C.N., Thorpe J.A. Photodynamic therapy (PDT) in Barrett's esophagus with dysplasia or early cancer // J. Cardiothorac Surg. 2006. Vol. 29 (1). P. 30–34.
10. Gollnick S.O., Brackett C.M. Enhancement of anti-tumor immunity by photodynamic therapy // Immunol. Res. 2010. Vol. 46 (1–3). P. 216–226.
11. Gross S.A., Wolfsen H.C. The role of photodynamic therapy in the esophagus // Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am. 2010. Vol. 20 (1). P. 35–53.
12. Huang Z., Xu H., Meyers A.D. et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors- potential and technical challenges // Technol. Cancer Res. Treat. 2008. Vol. 7 (4). P. 309–320.
13. Mroz P., Szokalska A., Wu M.X., Hamblin M.R. Photodynamic Therapy of Tumors Can Lead to Development of Systemic Antigen-Specific Immune Response // PLoS ONE. 2010. Vol. 5 (12). P. 151–194.
14. Preise D., Scherz A., Salomon Y. Antitumor immunity promoted by vascular occluding therapy: lessons from vascular-targeted photodynamic therapy (VTP) // Photochem. Photobiol. Sci. 2011. Vol. 10 (5). P. 681–688.

Поступила 5.04.13

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ПРИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ И/ИЛИ ЛУЧЕВОМ ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВОВ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА

О.К. Курпешев, В.В. Павлов, С.С. Шкляев

*ФГБУ «Медицинский радиологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ, г. Обнинск
249036, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева 4,
e-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru*

Проанализированы результаты применения локальной гипертермии (ЛГТ) в комбинированном лечении 25 пациентов с химио- и радиорезистентными рецидивами лимфомы Ходжкина. ЛГТ (41,5–42,6°С в течение 40–60 мин) осуществляли на поверхностно расположенные опухоли и сочетали с химиотерапией, лучевой или химиолучевой терапией. Лучевую терапию осуществляли по 2 Гр ежедневно или с расщеплением дневной дозы на 2 фракции (1 + 1 Гр) до СОД 20–30 Гр. После завершения основного лечения всем больным продолжали поддерживающие курсы химиотерапии. В течение 4–6 мес полный ответ опухоли по всей группе наблюдали в 65,0 % случаях, частичный – в 15,0 %, прогрессирование заболевания – в 20,0 %. После термохимиотерапии локальный контроль для 12–30-месячного срока наблюдения равнялся 16,7 %, при термолучевой терапии – для 30–60-месячного срока наблюдения составил 35,4 %. Таким образом, локальная гипертермия повышает непосредственные и отдаленные результаты (местный контроль) лучевой и химиотерапии больных с химио- и радиорезистентными рецидивами лимфомы Ходжкина.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, гипертермия, химиотерапия, лучевая терапия.

EFFICACY OF LOCAL HYPERTHERMIA IN CHEMOTHERAPY AND /OR RADIATION THERAPY FOR RECURRENCES OF HODGKIN'S LYMPHOMA

O.K. Kurpeshev, V.V. Pavlov, S.S. Shklyayev
*Medical Radiological Research Center RAMS, Obninsk
4, Korolyeva Street, 249036-Obninsk, Kaluga region, Russia,
e-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru*

Results of local hyperthermia (LHT) in combined modality treatment of 25 patients with chemo- and radio-resistant recurrences of Hodgkin's lymphoma were analyzed. Local hyperthermia for superficial tumors was combined with chemotherapy, radiotherapy and chemoradiotherapy (41.5–42.6°C for 40–60 min.) Radiation therapy was given in daily fractions of 2 Gy or daily dose was split into 2 fractions of 1 Gy + 1 Gy to a total dose of 20–30 Gy. At 4–6 month follow-up, complete tumor response was observed in 65.0 % of cases, partial response in 15.0 % and disease progression in 20.0 %. At a follow-up of 12–30 months after completion of thermochemotherapy, local control was 16.7 % and at a follow-up of 30–60 months after completion of thermoradiotherapy, local control was 35.4 %. Accordingly, local hyperthermia improves short- and long-term results (local control) of radiotherapy and chemotherapy in patients with chemo- and radio-resistant recurrences of Hodgkin's lymphoma.

Key words: Hodgkin's lymphoma, hyperthermia, chemotherapy, radiation therapy.

Последнее десятилетие ознаменовалось важными успехами в лечении злокачественных гемобластозов, в том числе и лимфомы Ходжкина (ЛХ). Однако, несмотря на применение современных лекарственных препаратов и интенсификацию программ комбинированной терапии, частота рецидивов ЛХ остается относительно высокой, и, в зависимости от стадии заболевания, она колеблется в пределах от 10 до 30 % [2, 4]. У большинства больных рецидивы становятся резистентными к химиолучевому лечению [10].

Причиной развития резистентности ЛХ является измененное функционирование апоптотического пути в клетках Березовского–Штернберга, что связано с делецией или мутацией гена p53 и/или выраженной экспрессией генов Bcl-2, MDR-1, а также активацией ядерного фактора каппа В (NF-kB) [1]. По данным Th.P. Miller et al. [8], после нескольких курсов химиотерапии у 21 % больных с ЛХ обнаруживается экспрессия трансмембранного белка Р-гр, являющегося одним из основных механизмов развития множественной лекарственной

устойчивости (МЛУ) клеток. Одним из возможных путей преодоления МЛУ опухолевых клеток является применение гипертермии. Гипертермическое воздействие ингибирует экспрессию P-gp, топоизомераз, подавляет активность ферментов системы глутатиона и индуцирует апоптоз опухолевых клеток [3, 9, 11, 13]. Эти данные нашли подтверждение в клинике при комбинированном лечении радио- и химиорезистентных опухолей с использованием как локальной, так и общей гипертермии [5, 6].

Цель исследования заключалась в изучении эффективности локальной гипертермии в преодолении химио- и радиорезистентности рецидивов ЛХ при различных методах комбинированного лечения.

Материал и методы

Исследование основано на результатах лечения 25 больных с рецидивирующим течением ЛХ₅ и резистентных к химиотерапевтическому и/или лучевому лечению. Возраст пациентов колебался от 17 до 50 лет (медиана 28,4 года), стадия заболевания от IA до IVB, мужчин было 10, женщин – 15. Локальную гипертермию (ЛГТ) проводили на поверхностно расположенные опухолевые узлы, доступные к нагреванию. При этом ЛГТ у 5 больных сочеталась с химиотерапией (термохимиотерапия – ТХТ), у 17 – с лучевой терапией (термолучевая терапия – ТЛТ), у 3 – с химиолучевой терапией (термохимиолучевая терапия – ТХЛТ).

Ранее пациенты получили от 3 до 27 циклов химиотерапии (в среднем – 6,2 цикла) и/или 1–3 курса лучевой терапии (ЛТ) в СОД от 20 Гр до 63 Гр (в среднем – 31,6 Гр). Для выявления возможного действия нагревания на механизмы развития резистентности ЛГТ сочетали с химиопрепаратами, которые больные без эффекта получали на последних 2–3 курсах химиотерапии.

Лучевую терапию проводили дробно-протяженным методом, по 2 Гр ежедневно или с расщеплением дневной дозы по схеме «1+1 Гр» до СОД 20–30 Гр. ЛГТ осуществляли на гипертермических установках «Яхта-3» (915 МГц), «Яхта-4» (434 МГц), «Супертерм ЭП-40» (40,68 МГц). Максимальная температура в опухоли колебалась в пределах 41,5–42,6°C. ЛГТ при ТХТ проводили сразу после введения ХП, при ТЛТ – непосредственно перед облучением, при ТХЛТ – после ХТ и перед ЛТ. В дальнейшем больным продолжали поддерживать курсы ПХТ.

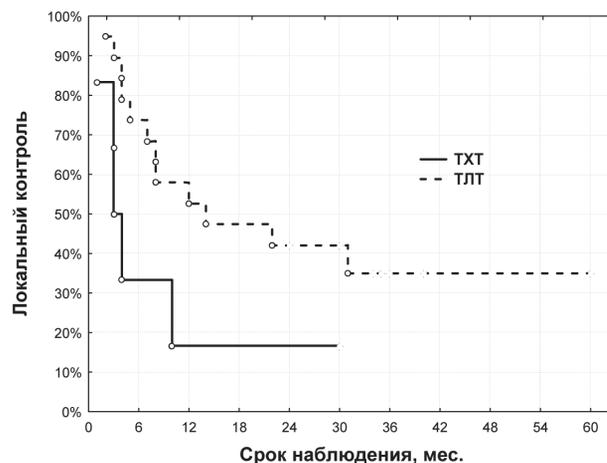


Рис. 1. Показатели локального контроля у больных с резистентными рецидивами лимфомы Ходжкина после ТХТ и ТХЛТ

Непосредственную реакцию опухоли оценивали по методике RECIST [12], отдаленные результаты – по локальному контролю. Кривые выживаемости по этому критерию рассчитывали по методу Каплан–Мейер [7] с использованием программы Statistica. Точкой отсчета выживаемости служило начало курса лечения с использованием ЛГТ.

Результаты и обсуждение

Полная регрессия (ПР) опухолевых очагов в течение 1–3 мес наблюдалась у 15,4 % больных, частичная (ЧР) – у 73,0 %, стабилизация (Ст) – у 7,7 %, у 1 больного отмечено прогрессирование (ПР) опухолевого процесса. В последующие сроки, в течение 4–6 мес, частота ПР по сравнению с контрольной точкой (1–3 мес) возросла от 16 до 68,4 % (у 13 из 19 больных), за счет дальнейшей регрессии опухолей с ЧР. Однако у 1 больного со стабилизацией и у 1 с ЧР опухоли начали прогрессировать.

В целом 5-летний локальный контроль составил 32,0 %, медиана этого показателя – 10,0 мес, 25-й процентиль – 4 мес. Отдельный анализ результатов ТХТ и ТЛТ (3 больных с ТХЛТ в этот анализ не включены) показал, что их эффективность значительно различается (рис. 1). Как при ТХТ, так и при ТЛТ рецидив заболевания в основном наблюдался в течение первого года после лечения. Локальный контроль при ТХТ в течение 12–30 мес оставался неизменным и равнялся 16,7 %, в то время как после ТЛТ этот показатель был значительно выше – через 30–60 мес после лечения он составил

35,4 %. Из 3 больных, подвергшихся ТХЛТ, у двоих на фоне общего прогрессирования заболевания имели место местная стабилизация и ЧР опухоли, третий пациент наблюдается без рецидива в течение 24 мес.

Непосредственно после завершения ТЛТ со стороны кожи на фоне эритемы наблюдалось сухое шелушение в виде отдельных или местами сливающихся между собой островков (I–II степень). При последующих наблюдениях (в течение года и более) лучевые изменения кожи у некоторых пациентов несколько усилились, что проявилось атрофией и появлением телеангиоэктазий.

Полученные результаты носят предварительный характер, но они показывают перспективность дальнейших исследований с учетом характеристик роста опухоли (нодальные, экстранодальные) и вариантов комбинированного лечения. Повышение эффективности ЛТ и ХТ у больных с резистентными формами рецидивов ЛХ при использовании ЛГТ, возможно, связано не только с ее радио- и химиосенсибилизирующим эффектом, но и влиянием на некоторые механизмы развития множественной лекарственной устойчивости. Учитывая, что при ЛХ чаще всего наблюдается диссеминация процесса, меры воздействия, способствующие преодолению лекарственной устойчивости, должны носить системный характер. При этом наиболее перспективным может быть использование химио- и/или лучевого лечения в сочетании с общей гипертермией.

Выводы

1. Локальная гипертермия снижает химио- и радиорезистентность рецидивов ЛХ и способствует повышению эффективности как лучевой, так и химиотерапии.

2. Частота полного ответа при рецидивах ЛХ в течение 4–6 мес после ТХТ, ТЛТ и ТХЛТ в целом составляет 68,4 %, частичного ответа – 15,8 %, прогрессирования – 20,0 %.

3. При радио- и химиорезистентных рецидивах ЛХ через 12–30 мес после ТХТ локальный контроль равнялся 16,7 %, при ТЛТ этот показатель через 30–60 мес после лечения составлял 35,4 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимов А.А., Ильин Н.В. Некоторые биологические аспекты лимфомы Ходжкина и новые подходы к ее терапии // Вопросы онкологии. 2003. Т. 49, № 1. С. 31–40.
2. Даценко П.Б., Панышин Г.А., Сотников В.М. Объем лучевой терапии при комплексном лечении лимфогранулематоза // VI Ежегодная Российская онкологическая конференция: Тез. докладов. М., 2002. С. 148.
3. Cippitelli M., Fionda C., Di Bona D. et al. Hyperthermia enhances CD95- ligand gene expression in T Lymphocytes // J. Immunol. 2005. Vol. 174 (1). P. 223–232.
4. Chisesi T., Federico M., Levis A. et al. Intergruppo Italiana Limfomi: ABVD versus Stanford versus MEC in unfavorable Hodgkins Lymphoma: results of a randomized trial // Ann. Oncol. 2002. Vol. 13 (suppl. 1). P. 102–106.
5. Douwes F., Migeod F., Grote Ch. et al. Phase II - study in Multidrug resistant (MDR) ovarian cancer With Whole Body Hyperthermia (WBH) // XXIV Int. Congress on Clinical Hyperthermia. Roma, Italy, 2001. Vol. II. P. 13.
6. Jager D., Atmaca A., Neumann A. et al. 41,8°C Whole body hyperthermia (WBH) combined with carboplatin in patients with advanced ovarian carcinoma // Ann. Oncol. 2000. Vol. 4. P. 82.
7. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations // J. Amer. Stat. Ass. 1958. Vol. 53. P. 457–481.
8. Miller Th.P., Chase E.M., Dalton W.S., Grogan Th.M. The phenomenon of multidrug resistance in non-Hodgkin's lymphoma // Advances in Lymphoma Research / Eds. Cabanillas F., Rodriguez M.A. Boston, Kluwer Academic Publ., 1997. P. 107–117.
9. Salah-Eldin A.E., Inoue S., Tsukamoto S. et al. An association of Bcl-2 phosphorylation and Bax localization with their functions after hyperthermia and paclitaxel treatment // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 103 (1). P. 53–60.
10. Shamash J., See S.M., Radford J.A. et al. Patters of relapse and subsequent management following high dose chemotherapy with autologous haematopoietic support in relapsed or refractory Hodgkins Lymphoma: A two center study // Ann. Oncol. 2000. Vol. 11. P. 715–719.
11. X. Yasumoto J., Kirita T., Takahashi A., Ohnishi K. et al. Apoptosis – related gene expression after hyperthermia in human tongue squamous cell carcinoma cells harboring wild-type or mutated-type p53 // Cancer Lett. 2004. Vol. 204 (1). P. 41–51.
12. Therasse P., Arbut S.G., Eisenhaner E.A. et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors // J. Nat. Cancer Inst. 2000. Vol. 92 (3). P. 205–216.
13. Zhang P., Wang D., Zheng G. Reversal Effect of Hyperthermia in Multidrug Resistant Phenomena 11 Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2003. Vol. 21 (2). P. 127–129.

Поступила 01.09.12

ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВЫСОКОПОЛЬНОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

И.Г. Фролова¹, Е.Л. Чойнзонов^{1,2}, Е.Е. Бобер¹, Н.Ю. Быстрова¹,
М.Р. Мухамедов^{1,2}, С.А. Величко¹

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹,
ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск²
634028, г. Томск, ул. Савиных 12/1, e-mail: FrolovaIG@oncology.tomsk.ru¹

Проанализированы данные, полученные при выполнении магнитно-резонансной томографии с использованием динамического контрастирования и построением графиков зависимости «интенсивность сигнала-время», которая выполнялась в предоперационном периоде пациентам со злокачественными новообразованиями щитовидной железы. Проведен анализ диагностической ценности высокопольной МРТ с динамическим контрастированием в диагностике рака щитовидной железы.

Ключевые слова: МРТ, динамическое контрастирование, рак щитовидной железы.

THYROID CANCER DETECTION USING HIGH-FIELD MAGNETIC RESONANCE IMAGING
I.G. Frolova¹, E.L. Choinzonov^{1,2}, E.E. Bober¹, N.Yu. Bystrova¹, M.R. Mukhamedov^{1,2}, S.A. Velichko¹
Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk¹,
Siberian State Medical University, Tomsk²
12/1 Savinykh Street, 634028-Tomsk, Russia,
e-mail: FrolovaIG@oncology.tomsk.ru¹

Findings of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging with the use of the time-signal intensity curve were assessed in patient with thyroid cancer. Diagnostic value of high-field dynamic contrast-enhanced MRI in detection of thyroid cancer was analyzed.

Key words: dynamic contrast-enhanced MRI, thyroid cancer.

Совершенствование методов лучевой диагностики ведет к поиску новых патогномичных признаков узловых образований различной природы в щитовидной железе (ЩЖ). Ультразвуковое исследование (УЗИ) является ведущим методом визуализации патологии щитовидной железы, метод позволяет на ранних стадиях выявлять различные патологические образования [1, 2]. Сонография, обладая высокой разрешающей способностью, дает возможность оценить размеры, структуру опухолевого узла, исследовать кровоток. Онкологическую настороженность вызывают гипозоногенные узлы с гетерогенной структурой, неровными и нечеткими контурами [11]. Несмотря на совершенствование ультразвуковой техники, эхография не позволяет с высокой достоверностью исключить или подтвердить злокачественную трансформацию в узлах щитовидной железы [4, 6].

Широкое применение в диагностике опухолевых образований в ЩЖ получила тонкоигольная аспирационная биопсия с цитологическим исследованием пункционного материала [8, 9].

Результативность цитологического заключения при пункции щитовидной железы колеблется в пределах 58,2–82 % [2, 7, 16]. Методика обладает высокой специфичностью в установлении патоморфологического диагноза.

Трудности диагностики возникают при многоочаговой патологии, при ретротрахеальном и загрудинном расположении зоба, поэтому все чаще у этой категории больных используют рентгеновскую компьютерную томографию и магнитно-резонансную томографию [12, 16, 17]. Магнитно-резонансная томография (МРТ) в отличие от УЗИ и компьютерной томографии обладает наибольшей контрастностью мягких тканей шеи. Метод способен дать информацию об анатомии структур шеи и верхней части грудной клетки, одновременно выявляя объемные образования в щитовидной железе размером до 2–3 мм и увеличенные лимфатические узлы шеи [3, 15]. Однако остается открытым вопрос о способности МРТ определять характер патологического процесса при изучении различных комбинаций интенсивности

сигнала от структур узловых образований. Некоторые исследователи считают, что достаточно УЗИ с ЦДК и тонкоигольной аспирационной биопсией. Другие указывают на возможность получения достоверных данных о морфологическом строении узлов щитовидной железы при использовании МРТ, а также на высокую эффективность дифференциальной диагностики доброкачественных очагов и рака ЩЖ [13–17].

Таким образом, вопрос о наличии объективных критериев, определяющих роль МРТ в диагностическом алгоритме при выявлении рака щитовидной железы, продолжает оставаться актуальным.

Материал и методы

Проведено комплексное обследование 22 пациентов с морфологически верифицированным раком щитовидной железы T₁₋₄N₀₋₃M₀ стадии, находившихся на лечении в ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН. Из них 18 женщин и 4 мужчин. Возраст больных колебался в пределах от 27 до 68 лет, средний возраст – 49,3±1,3 года. Комплексная диагностика включала осмотр и пальпацию щитовидной железы и шейных лимфатических узлов, ультразвуковое исследование щитовидной железы с последующей тонкоигольной аспирационной биопсией под ультразвуковым контролем, магнитно-резонансную томографию щитовидной железы. В большинстве случаев (31,8 %) выявлена T₂N₀M₀ стадия (таблица). При этом в 91 % морфологически был верифицирован папиллярный рак, в 4,5 % – медулярный вариант карциномы, в 4,5 % – низкодифференцированный рак.

Таблица

Распределение больных раком щитовидной железы по стадиям

Стадия процесса	Число больных
T ₁ N ₀ M ₀	3 (13,63 %)
T ₂ N ₀ M ₀	7 (31,81 %)
T ₂ N ₁ M ₀	1 (4,55 %)
T ₂ N ₃ M ₀	1 (4,55 %)
T ₃ N ₀ M ₀	4 (18,18 %)
T ₃ N ₁ M ₀	1 (4,55 %)
T ₃ N ₂ M ₀	1 (4,55 %)
T ₃ N ₃ M ₀	1 (4,55 %)
T ₄ N ₂ M ₀	1 (4,55 %)
T ₄ N ₃ M ₀	2 (9,08 %)
Всего	22 (100 %)

Эхография проводилась на ультразвуковом сканере Aloka SSD-5500 ProSound PHD с использованием мультисекторного линейного датчика 7–11 МГц в режиме серошкального сканирования (В-режиме), цветового и энергетического доплеровского картирования (ЦДК и ЭДК) с использованием тканевой гармоник. При выявлении очаговых образований щитовидной железы проводилась тонкоигольная пункционная аспирационная биопсия под контролем ультразвука с последующим цитологическим исследованием.

Магнитно-резонансная томография проводилась на 1,5Т МР-томографе «Magnetom Essenza» (Siemens, Германия). Исследование начиналось с выполнения локалайзера в 3 плоскостях. По локалайзеру выставляли последующие плоскости сканирования с необходимым количеством срезов. Зона исследования начиналась от области околушных слюнных желез до уровня бифуркации трахеи. Протокол исследования включал получение изображений в стандартных импульсных последовательностях на T1-взвешанных изображениях (ВИ), T2-ВИ, методику подавления сигнала от жира, DWI с толщиной срезов 3 мм. Первоначально выполнялась серия изображений в коронарной плоскости с подавлением сигнала от жира. Далее выполнялись сканы в аксиальной и сагиттальной проекциях в T1, T2 и DWI изображениях. При необходимости протокол исследования дополнялся серией аксиальных сканов с подавлением сигнала от жира (для оценки состояния лимфатических узлов).

МРТ с динамическим контрастированием выполнялась в аксиальной проекции с получением T1-ВИ в последовательности VIBE 3D. На первом этапе выполняли одну преконтрастную серию T1-ВИ в аксиальной проекции. С помощью автоматического инъектора болюсно вводили парамагнетик в стандартной дозе 0,2 мл/кг с последующим введением 30 мл физиологического раствора. Использование инъектора позволяло выполнить введение контрастного препарата непосредственно во время сканирования и избежать смещения тела пациента во время исследования, что важно для дальнейшего постпроцессорного анализа и субтракции с построением динамических кривых. После введения парамагнетика получали серию сканов T1-ВИ в аксиальной проекции, выполненных с теми же техническими параметрами, кото-

рые сравнивали с аналогичными изображениями до введения контрастного вещества.

В завершение исследования осуществляли постпроцессорный анализ в виде математической обработки полученных изображений с методикой цифровой субтракции и построения графиков захвата и выведения контрастного вещества, с помощью которых оценивали степень накопления и динамику прохождения контрастного вещества в узловых образованиях, а также в неизменной паренхиме щитовидной железы для проведения сравнительного анализа. Данные анализа представляли в виде графической зависимости изменения интенсивности сигнала от времени при прохождении парамагнитного контрастного средства.

Результаты и обсуждение

По данным магнитно-резонансной томографии размеры опухоли колебались от 8 мм до 83 мм, средний размер составил 23 ± 6 мм. Новообразования, как правило, локализовались в одной из долей, в 76,2 % располагались в пределах капсулы железы и не распространялись на окружающие структуры.

В 81,8 % злокачественные опухоли щитовидной железы имели нечеткие и неровные контуры, в 22,7 % отмечалась инвазия в окружающие органы (клетчатка, трахея, сосудистые структуры). При этом в 18,2 % образования имели четкие и ровные контуры (что более характерно для доброкачественных образований), но четкой капсулы не прослеживалось.

Структура опухоли была неоднородной. Злокачественные образования имели преимущественно изо- или слабогиперинтенсивный сигнал на T1-ВИ и изоинтенсивный сигнал на T2-ВИ, с наличием различного рода включений. При этом гиперинтенсивные участки на T2-ВИ были обусловлены накоплением белковых элементов (таких как коллоида, амилоида) и слабой выраженностью фиброза. Линейные гипоинтенсивные участки на T1-ВИ (72,2 %) и T2-ВИ соответствовали фиброзным включениям, а мелкие (2–3 мм) участки сниженного МР-сигнала на T1- и T2-ВИ соответствовали участкам обызвествления – 22,2 % и 27,8 % соответственно.

МРТ позволила выявить истинные границы опухоли, взаимоотношение с прилежащими анатомическими структурами. В 13,6 % опухоль инфильтрация распространялась на окружающие

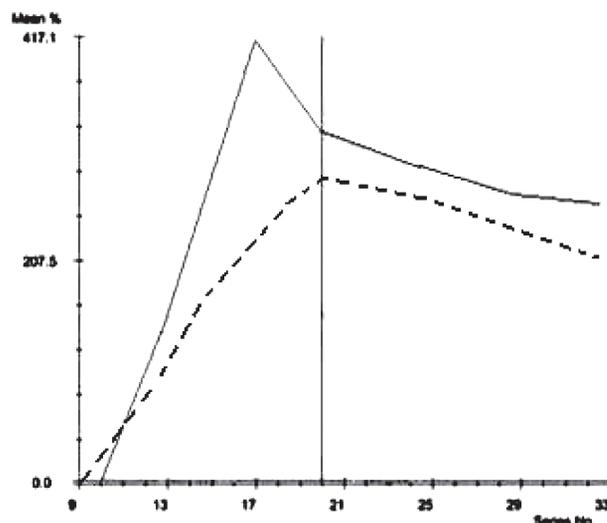


Рис. 1. Динамические кривые зависимости «интенсивность сигнала – время»

Примечание: ----- нормальная паренхима щитовидной железы, определяется постепенное увеличение интенсивности сигнала от контрастного вещества, с последующим равномерным снижением интенсивности сигнала во времени; рак щитовидной железы, определяется раннее интенсивное усиление сигнала, с формированием острого пика с последующим быстрым вымыванием

сосуды (внутреннюю яремную вену, общую сонную артерию), что характеризовалось нечеткостью контуров между образованием и прилежащей стенкой, а в ряде случаев сужением просвета сосуда. В 4,7 % опухоль инфильтрировала стенки трахеи с образованием экзофитного компонента в ее просвете. В 18,2 % опухоль распространялась за грудную клетку, и по данным сонографии возникали трудности в оценке истинных границ образования. Максимальный размер за грудную клетку опухоли достигал 83 мм (рис. 1), при этом она оттесняла и сдавливала окружающие структуры (трахею, пищевод).

В алгоритм обследования была включена оценка лимфатических узлов шеи, начиная от уровня околоушных лимфатических узлов и заканчивая уровнем верхней паратрахеальной группы. Так, в 13,6 % были выявлены увеличенные паратрахеальные лимфатические узлы, не визуализированные по данным УЗИ. В 22,7 % выявлены увеличенные лимфатические узлы размерами более 15 мм, которые при морфологическом исследовании операционного материала определены как метастатические. Как правило, это были узлы на стороне поражения,

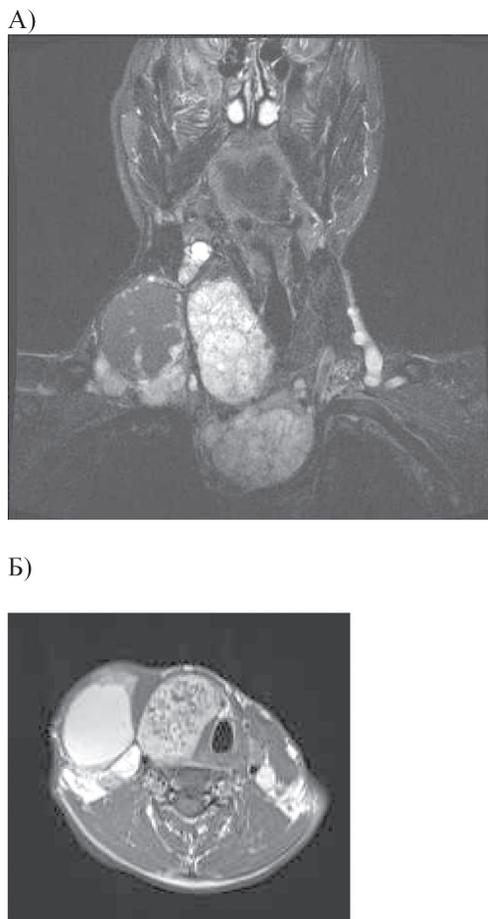


Рис. 2. МР-томограммы: А) Т2 ВИ с подавлением сигнала от жира (фронтальный срез); Б) Т2 ВИ (аксиальный срез). Папиллярный рак щитовидной железы на фоне микро-макрофолликулярного зоба с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи, верхнего средостения. Правая доля и перешеек щитовидной железы представлены объемным образованием, с четкими, неровными контурами, неоднородной солидной структуры, с наличием кальцинатов. Справа визуализируется конгломерат метастатически измененных лимфатических узлов

в 9,1 % случаев поражение лимфатических узлов носило двусторонний характер.

При выполнении динамической МРТ у всех пациентов очаговые образования злокачественного характера в щитовидной железе усиленно накапливали контрастное вещество по сравнению с паренхимой щитовидной железы. При этом нормальная паренхима щитовидной железы равномерно и однородно накапливала парамагнетик. Как правило, это были очаги, имеющие гипоинтенсивный

или слабогиперинтенсивный сигнал с наличием гипоинтенсивных включений на Т2-ВИ.

При анализе параметров динамического МР-сканирования основными критериями оценки явились: тип кривой накопления и выведения контрастного препарата, время достижения пика и степень максимального контрастирования. По данным литературы, выделяют несколько типов кривых интенсивность-время [5, 10]. В неизменной паренхиме щитовидной железы накопление контрастного вещества выглядело как постепенное увеличение интенсивности сигнала с последующим равномерным снижением во времени (рис. 2). По результатам нашего исследования в 63,6 % случаев характерным был тип кривой, отражающий раннее интенсивное усиление сигнала, с формированием острого пика на 12–17-й сек (быстрое накопление), после достижения – фаза выведения контрастного вещества, называемая в литературе «wash out» и отражающая процесс быстрого его вымывания (рис. 2). В остальных случаях наблюдался тип кривой, который более характерен для доброкачественных образований: раннее и интенсивное усиление сигнала на 14–23 сек, с последующим медленным выведением и/или плато (отсутствием динамики). Таким образом, при оценке параметров динамического контрастирования в 36,4 % случаев однозначно высказаться о наличии злокачественной опухоли было сложно, однако полностью исключить наличие рака в выявленных очагах было нельзя, что было подтверждено результатами морфологического исследования. Также необходимо отметить, что оценку результатов затрудняла высокая степень васкуляризации нормальной паренхимы щитовидной железы, так как в сравнении с другими органами ЩЖ имеет маленький объем и интенсивную васкуляризацию.

Заключение

МРТ следует считать наиболее точным неинвазивным методом диагностики рака щитовидной железы. Преимуществами метода являются получение изображения в любой проекции без потери его качества и отсутствие лучевой нагрузки на пациентов. Использование МРТ при низко расположенной щитовидной железе, анатомических особенностях строения шеи, а также при наличии патологического процесса, распространяющегося загрудинно, имело несомненное преимущество

перед УЗИ в выявлении истинных границ опухоли, распространения образования на окружающие структуры и в оценке паратрахеальных лимфатических узлов, не всегда визуализированных при ультразвуковом исследовании. Рак щитовидной железы характеризовался нечеткими, неровными контурами, неоднородностью сигнала, которая была обусловлена преимущественно гипоинтенсивными включениями как линейного, так и глыбчатого характера на Т2-ВИ. При распространении за пределы капсулы отмечался инфильтративный характер роста с вовлечением в патологический процесс окружающих структур. При динамическом контрастировании выявлено раннее усиление интенсивности сигнала с формированием острого пика, с последующим преобладанием фазы выведения контрастного вещества.

Таким образом, включение МРТ в алгоритм обследования дополняет данные сонографии о распространенности патологического процесса и состоянии регионарного лимфатического аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочкарева О.В., Синюкова Г.Т., Циклаури В.Т. и др. Современные возможности ультразвуковой диагностики рецидивов рака щитовидной железы // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 4 (46). С. 41–46.
2. Ветшев П.С., Габаидзе Д.И., Баранова О.В. Сравнительная оценка методов исследования при аденомах щитовидной железы // Хирургия. 2001. № 10. С. 4–10.
3. Гащенко А.Д. Рациональные объемы лечения при раке щитовидной железы // Материалы IX Всероссийской конференции онкологов «Гормонозависимые опухоли». СПб., 2002. С. 363–365.
4. Евтюхина А.Н. Комплексная лучевая диагностика очагового поражения щитовидной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2009. 19 с.
5. Китаев С.В., Круглина Р.В., Нестеров С.Н. Динамическая МРТ-новый метод диагностики рака простаты // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2009. Т. 4, № 1. С. 63–67.
6. Колокасидис И.В. Магнитно-резонансная томография при узловых образованиях щитовидной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1999. 23 с.
7. Кондратьева Т.Т., Павловская А.И., Врублевская Е.А. Морфологическая диагностика узловых образований щитовидной железы // Практическая онкология. 2007. Т. 8, № 1. С. 9–16.
8. Мерабишвили В.М. Онкологическая служба в Санкт-Петербурге и районах города в 2005 г. СПб., 2006. 123 с.
9. Полоз Т.Л., Шевченко С.П. Проблемы цитологической диагностики фолликулярных опухолей щитовидной железы // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 6 (48). С. 62–65.
10. Серебрякова С.В., Труфанов Г.Е., Фокин В.А., Юхно Е.А. Магнитно-резонансная маммография: обоснование необходимости динамического контрастирования // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11: Медицина. 2009. № 1. С. 151–156.
11. Трофимова Е.Ю. Значение ультразвукового исследования при опухолях щитовидной железы // Медицинские последствия аварии на ЧАЭС. Минск, 1995. С. 31–34.
12. Чиссов В.И., Старинский В.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году. М., 2010. 256 с.
13. Aydın H., Kızılgöz Y., Tatar İ. et al. The role of proton MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient values in the diagnosis of malignant thyroid nodules: preliminary results // Clin. imaging. 2012. Vol. 36 (4). P. 323–333.
14. Bonavita J.A. Sonographic patterns of benign thyroid nodules // AJR. 2012. Vol. 198 (1) P. 102–103.
15. Bozgeyik Z., Coskun S., Dagli A.F. et al. Diffusion-weighted MR imaging of thyroid nodules // Neuroradiology. 2009. Vol. 51 (3). P. 193–198.
16. Erdem G., Erdem T., Muammer H. et al. Diffusion-weighted images differentiate benign from malignant thyroid nodules // J. Magn. Reson. Imaging. 2009. Vol. 31 (1). P. 94–100.
17. Ilica A.T., Artaş H., Ayan A. et al. Initial experience of 3 tesla apparent diffusion coefficient values in differentiating benign and malignant thyroid nodules // J. Magn. Reson. Imaging. 2013. Vol. 37 (5). P. 1077–1082.

Поступила 4.02.13

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И РАКОМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Кашинцев, Н.Ю. Коханенко

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Центральная, д. 57,
e-mail: akashincev@list.ru*

Обобщен опыт лечения 183 больных раком поджелудочной железы. У пациентов исследовались частота нарушения углеводного обмена, а также временная зависимость между началом сахарного диабета и выявлением опухоли поджелудочной железы. Установлено, что у 133 (72,7 %) пациентов наблюдалось нарушение метаболизма глюкозы, сахарный диабет установлен у 49 (26,8 %), причем у 28 (57,2 %) был впервые выявленным.

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, сахарный диабет, повышение уровня глюкозы.

RELATIONSHIP BETWEEN DIABETES MELLITUS AND PANCREATIC CANCER

A.A. Kashintsev, N.Yu. Kokhanenko

*Saint-Petersburg State Pediatric Medical University
57, Central Street 197758- St. Petersburg, Russia, e-mail: akashincev@list.ru*

Experience of treating 183 pancreatic cancer patients was summarized. The frequency of carbohydrate metabolism disorder and time dependence between the onset of diabetes and pancreatic cancer detection were examined. It was found that 133 (72.7 %) patients had glucose intolerance. Diabetes mellitus was detected in 49 (26.8 %) patients and 28 of them (57.2 %) had new-onset diabetes. In the latter group of patients, it can be considered that detection of endocrine disease was an early sign of pancreatic cancer.

Key words: pancreatic cancer, diabetes mellitus, increased blood glucose level.

Рак поджелудочной железы является одной из наиболее злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта, занимает четвертое место среди причин смерти от онкологических заболеваний в мире, пятилетняя выживаемость составляет менее 5% [3]. Несмотря на развитие современных методов диагностики, выявление заболевания происходит на последних стадиях, поэтому резектабельность составляет не более 15–20 % [2, 6]. Связь сахарного диабета (СД) и рака поджелудочной железы отмечена давно [4, 5, 9]. Исследования последнего десятилетия показали, что среди пациентов с диабетом частота опухолей поджелудочной железы составляет 1,6 – 2 %, при этом превалирует впервые выявленный СД [8, 11, 15].

Риск развития злокачественных заболеваний у пациентов с сахарным диабетом в 2 раза выше при длительности заболевания менее 5 лет. Ряд работ показывает, что риск рака поджелудочной железы увеличивается при длительно существующем СД [2, 17, 19]. Частота диабета среди больных РПЖ, по разным данным, колеблется от 5 до 40 % [8, 11], однако все авторы едины во мнении, что периодическая гипергликемия наблюдается в 80 %

случаев [8, 14]. Отмечено также, что течение и лечение диабета у пациентов до и после панкреатодуоденальной резекции по поводу РПЖ имеет свои особенности: до операции зачастую проводится заместительная терапия, после оперативного лечения нередко уровень глюкозы крови снижается, уменьшаются дозировки при инсулинотерапии, а иногда бывает достаточно лишь сахароснижающих препаратов.

Целью исследования являлось выявление распространенности сахарного диабета среди больных раком поджелудочной железы, степени нарушений углеводного обмена при этом заболевании, а также определение диабета как раннего симптома опухоли.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базах СПб ГУЗ «Городская Мариинская больница», НИИ скорой помощи им. Ю.Ю. Джанелидзе, СПб ГУЗ «Городская Покровская больница», СПб ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», «Ленинградский областной онкологический диспансер» с 2009 по 2011 г. Изучены истории болезни 183 больных раком поджелудочной железы в возрасте

от 43 до 87 лет, средний возраст составил 71,3 года. Из них 85 (46,5 %) мужчин и 98 (53,6 %) женщин. Диагноз устанавливался на основании клинических данных, биохимических показателей, определения онкомаркеров, результатов инструментальных исследований: УЗИ, спиральной компьютерной томографии (СКТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), магнитно-резонансной холангиопанкреатографии (МРХПГ), эндоскопического УЗИ. Гистологическая верификация диагноза была у 113 (61,8%) пациентов. Причиной отсутствия морфологического подтверждения в остальных случаях явились поздняя стадия заболевания, несомненное подтверждение диагноза по данным всех методов исследования.

Диагноз сахарный диабет был поставлен пациентам согласно рекомендациям ВОЗ, 9 пересмотра [1]. Характер течения и длительность заболевания, а также данные о колебании уровня глюкозы оценивались по дневникам пациента, амбулаторным медицинским картам, выписным справкам из стационаров в течение 60 мес. Определяли индекс массы тела (ИМТ= вес (кг)/рост² (м)), при сборе анамнеза особое внимание обращали на наличие предшествующих онкологических заболеваний; случаи сахарного диабета и рака поджелудочной железы среди членов семьи.

Для контроля гликемии в стационаре определяли уровень глюкозы капиллярной и венозной крови

пациентов и оценивали эффективность антидиабетической терапии.

Диагноз сахарного диабета ставили, если уровень глюкозы плазмы крови натощак был выше 7 ммоль/л или в случае приема пациентом сахароснижающих препаратов. Ситуация, при которой значения гликемии были выше 6,1 ммоль/л, но ниже 7,0 ммоль/л, расценивали как нарушенную гликемию натощак или нарушенную толерантность к глюкозе. Длительно текущим считался диабет, если уровень сахара был выше критерия на протяжении более чем 24 мес, впервые выявленный – менее 24 мес, и неопределенной давности, если у больного повышение уровня глюкозы крови отмечалось в течение 24 мес, но более ранние данные не известны.

В зависимости от того, сколько времени прошло между дебютом сахарного диабета и установлением диагноза опухоли поджелудочной железы, выделили 5 групп с интервалом в 12 мес: I группа – от 1 до 12 мес; II группа – от 12 до 24 мес; III группа – от 24 до 36 мес; IV группа – от 36 до 48 мес; V группа – от 48 до 60 мес.

Результаты и обсуждение

У 161 (88 %) пациента опухоль локализовалась в головке поджелудочной железы. Первая стадия РПЖ не была выявлена. Вторая стадия – у 27 пациентов (14,8 %), ИМТ составил 26,9; III стадия – у 108 (59 %) пациентов, ИМТ – 24,1, средняя потеря

Таблица

Частота сахарного диабета у больных раком поджелудочной железы и наличие при этом отягчающих наследственности

Показатель	Число больных (%)
Стадия заболевания (ст):	
I ст	0
II ст	27 (14,8%)
III ст	108 (59%)
IV ст	48 (26,2%)
Онкологический семейный анамнез ¹ :	
Да	102 (55,7%)
Нет	81 (44,3%)
Наличие сахарного диабета:	
Да	49 (26,8%)
Нет	134 (73,2%)
Наличие сахарного диабета у родственников ¹ :	
Да	15 (8,2%)
Нет	168 (91,8%)

Примечание: * – только среди прямых родственников.

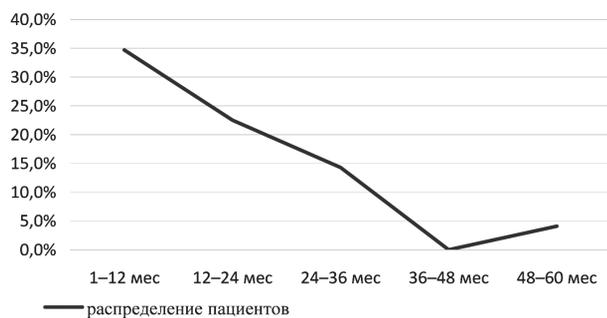


Рис. 1. Распределение пациентов по срокам развития сахарного диабета и выявления рака поджелудочной железы

массы тела составила 3,4 кг; IV стадия – у 48 пациентов (26,2 %), ИМТ – 21,5, потеря массы тела – 7,9 кг. Средний уровень глюкозы капиллярной крови составил 7,3 ммоль/л, среди больных с сахарным диабетом – 10,4 ммоль/л, среди больных с НТГ – 6,7 ммоль/л. У 15 пациентов (8,2 %) выявлены близкие родственники с сахарным диабетом, с онкологической патологией – 102 (55,7 %), при этом рак поджелудочной железы был у 3 (1,6 %) (таблица).

В группе из 183 пациентов у 50 не было повышения уровня сахара, у 133 (72,7%) наблюдали нарушение метаболизма глюкозы, среди них у 49 (26,8%) установлен диагноз сахарного диабета, а у 84 (45,9%) имелась нарушенная гликемия натощак. У больных СД (n=49) рак поджелудочной железы был выявлен в следующие сроки: I группа (1–12 мес) – 17 (34,7 %); II группа (12–24 мес) – 11 (22,5 %); III группа (24–36 мес) – 7 (14,3 %); IV группа (36–48 мес) – 0; V группа (48–60 мес) – 2 (4,1 %) (рис. 1). В группу с неопределенной длительностью течения СД были включены 12 (24,5 %) больных. Таким образом, установлено, что чаще диагностировали впервые выявленный сахарный диабет (28 пациентов, 57,2 %). Потребность в инсулине была у 19 (38,7 %) больных, причем срок перехода с сахароснижающих препаратов на заместительную терапию составил в среднем 4,2 мес. Возраст этих больных колебался от 52 до 67 лет, средний возраст составил 57,4 года. Из них III стадии установлен у 13, IV стадии – у 15 больных. В целом в группе больных СД только 7 в семейном анамнезе имели родственников с сахарным диабетом.

Среди пациентов с нарушенной гликемией натощак повышение уровня глюкозы крови у 4 (24,6 %) больных было выявлено впервые во время госпитализации, у 13 (7,1 %) отмечалось

повышение её уровня в течение 6–24 мес, а у 26 (14,2 %) менее 6 мес.

Основным симптомом дебюта рака поджелудочной железы являлась желтуха – 173 (94,5 %) больных, в 51 (27,9 %) случае она была единственным симптомом заболевания; боли отмечали 167 (91,3 %) пациентов, снижение массы тела – 161 (88 %). Временной интервал между появлением симптомов и выявлением опухоли был следующим: при желтухе – 0,5 мес, при потере массы тела – 2,75 мес, при абдоминальных болях – 3,1 мес, при болях в пояснице – 7,5 мес.

Для подтверждения диагноза всем пациентам выполняли УЗИ, информативность которого зачастую зависела от квалификации специалиста, чувствительность метода составила 85,2 %. КТ применили у 115 (62,8 %) пациентов, у 7 (6,1 %) не выявлено образование, у 11 (9,6 %) не выявлены имеющиеся отдаленные и/или регионарные метастазы, чувствительность его составила 93,9 %. МРТ использовали у 146 (79,8 %) больных, в 6 случаях (4,1 %) получен ложноположительный результат, чувствительность метода составила 95,9 %. ЭндоУЗИ проведено 54 пациентам, чувствительность – 98,1 %.

Многие исследования показывают, что факторами риска развития рака поджелудочной железы является курение, повышенный вес, высококалорийная диета [21]. На связь сахарного диабета и рака поджелудочной железы указывали разные авторы, однако в литературе уделяется мало внимания этой проблеме. В последнее время периодически стал появляться термин «сахарный диабет, ассоциированный с бластомой поджелудочной железы», так как опыт показывает, что в комбинации эти две нозологии имеют характерные особенности [8, 15]. Причины такого взаимоотношения до конца не ясны. Существует два взгляда на данный вопрос. Согласно первой теории, опухоль является причиной развития диабета. В подтверждение этой теории авторы показывают, что у пациентов после панкреатодуоденальной резекции часто колебания сахаров крови приходят к норме [16, 18, 20]. Причиной развития опухоли ассоциированного сахарного диабета считают вещества, секретируемые раковыми клетками, которые вызывают перестройку и деструкцию островкового аппарата железы, влияют на метаболизм глюкозы, а также изменяют структуру самого инсулина, с последующим развитием

резистентности к нему [7, 13, 20]. Согласно второй теории, сахарный диабет является причиной развития рака поджелудочной железы. По мнению авторов, у пациентов на протяжении длительного времени имеется повышенный уровень инсулина. Он обладает перmissивным эффектом, схожим с влиянием фактора роста. Клетки поджелудочной железы при этом находятся в условиях, стимулирующих их активный рост и деление. В результате увеличивается вероятность возникновения дефектов в генетическом аппарате клеток, что в конечном итоге приводит к их малигнизации [9, 10].

Таким образом, полученные результаты позволяют считать, что для улучшения диагностики заболевания на ранней стадии следует формировать группу больных с повышенным риском развития рака поджелудочной железы. В эту группу включают пациентов с внезапным появлением сахарного диабета, особенно в возрасте старше 51 года (средний возраст группы составил 57,4 года), не имеющих семейного анамнеза данного заболевания (только у 7 (3,8 %) имелись родственники с диабетом), но с отягощенным онкологическим семейным анамнезом (102 больных, 55,7 %). За пациентами данной группы необходимо тщательное наблюдение, особенно в течение первых 24 мес от начала заболевания (28 больных 57,2 %). Дополнительно, при обследовании, помимо УЗИ, этим больным требуется проведение эндоУЗИ, спиральной КТ, МРТ в динамике. Переход на заместительную инсулинотерапию, появление болей в области живота или поясницы, снижение массы тела являются дополнительными симптомами, которые позволят установить диагноз рак поджелудочной железы на ранних стадиях, что увеличит резектабельность опухоли и приведет к улучшению результатов лечения.

Выводы

1. Впервые выявленный сахарный диабет может быть первым и ранним симптомом опухоли поджелудочной железы.

2. Следует формировать группу риска среди пациентов с впервые выявленным СД, при этом необходимы активное наблюдение за больными и инструментальное обследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Клебанов Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. М.: Медицина, 2002. С. 345–457.
2. Калинин А.П., Майстренко Н.А., Ветшев П.С. Хирургическая эндокринология. СПб., 2004. С. 641–715.
3. Мерабишвили В.М. Выживаемость онкологических больных. СПб.: ИПК «Бионт», 2006. С. 153–155.
4. Никитин Ю.П., Оленко Т.Г., Симонова Г.И. Метаболический синдром и его компоненты как возможные модифицируемые факторы риска рака (литературный обзор) // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 2 (50). С. 68–72.
5. Путов Н.В., Артемьева Н.Н., Коханенко Н.Ю. Опухоли поджелудочной железы. СПб., 2005. С. 5–127.
6. Сулаев М.А., Селиванова М.В., Новиков П.В. и др. Опухоли поджелудочной железы: диагностика, лечение, прогноз // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 2 (18). С. 51–55.
7. Basso D., Valerio A., Mazza S. et al. Putative pancreatic cancer-associated diabetogenic factor: 2030 MW-peptide // *Pancreas*. 2002. Vol. 24. P. 8–14.
8. Chari S.T., Leibson C.L., Rabe K. G. et al. Pancreatic cancer associated with diabetes mellitus, prevalence and temporal association with diagnosis of cancer // *Gastroenterology*. 2008. Vol. 134. P. 95–101.
9. Everhart J., Wright D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis // *JAMA*. 1995. Vol. 273. P. 1605–1609.
10. Fisher W.E., Muscarella P., Boros L.G., Schirmer W.J. Variable effect of streptozotocin-diabetes on the growth of hamster pancreatic cancer in the Syrian hamster and nude mouse // *Surgery*. 1998. Vol. 123. P. 315–320.
11. Hong S.G., Jung S.J., Joo M.K. et al. Association between pancreatic cancer and diabetes mellitus // *Korean J. Gastroenterology*. 2009. Vol. 54. P. 167–173.
12. Huxley R., Ansary-Moghaddam A., Berrington de Gonzalez A. et al. Type-II diabetes and pancreatic cancer a meta- analysis of 36 studies // *British Journal of Cancer*. 2005. Vol. 92. P. 2076–2083.
13. Isaksson B., Friess H. Impaired insulin action on phosphatidylinositol-3-kinase and glucosae transport in skeletal muscles pancreatic cancer patients // *Pancreas*. 2003. Vol. 26. P. 173–177.
14. Noy A., Beilezikian J.P. Clinical review 63: Diabetes and pancreatic cancer: clues to the early diagnosis of pancreatic malignancy // *The Journal of Clinical Endocrinology and metabolism*. 1994. Vol. 79. P. 1223–1231.
15. Pannala R., Leibson C.L., Chari S. T. et al. Temporal association of changes in fast blood glucosae and body mass index with diagnosis of pancreatic cancer // *Gastroenterology*. 2009. Vol. 104. P. 2318–2325.
16. Permert J., Ihse I. Pancreatic cancer is associated with impaired glucosae metabolism // *Eur. J. Surgery*. 1993. Vol. 159. P. 101–107.
17. Renehan A., Smith U., Kirkman M.S. et al. Linking diabetes and cancer: a consensus on complexity // *The Lancet*. 2010. Vol. 375. P. 2201–2202.
18. Schwarts S., Zeidler A. A prospective study of glucosae tolerance, insulin, C-peptide and glucagone responses in patients with pancreatic adenocarcinoma // *Am. J. Diagnosis and Disease*. 1978. Vol. 23. P. 1107–1114.
19. Silverman D.T., Schiffman M., Everhart J. et al. Diabetes mellitus other medical conditions and familial history of cancer as risk factors of pancreatic cancer // *Br. J. Cancer*. 1999. Vol. 80. P. 1830–1837.
20. Wang F., Herrington M., Jørgen L., Permert J. The relationship between diabetes and pancreatic cancer // *Molecular Cancer*. 2003. Vol. 36. P. 2–4.
21. Yamaguchi K. How to define patients at high risk for pancreatic cancer // *Pancreatolology*. 2011. Vol. 2. P. 3–6.

УДК: 616-006.66:557-29

КАРТИРОВАНИЕ ЭПИТОПА НА БЕЛКЕ ERBB-2, УЗНАВАЕМОГО МОНОКЛОНАЛЬНЫМ АНТИТЕЛОМ 4В8, С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ

М.Б. Боргоякова^{1,2}, А.А. Ильичев^{1,2}

*ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская обл.¹,
Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск²
630559, Новосибирская обл., п. Кольцово, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
e-mail: duker@vector.nsc.ru¹*

Представлены результаты идентификации и локализации эпитопа в составе белка ErbB-2, с которым связывается моноклональное антитело 4В8, предназначенное для использования при проведении иммуногистохимического анализа с целью оценки уровня продукции белка ErbB-2. Эпитоп был идентифицирован с помощью биопеннинга фаговой пептидной библиотеки на основе нитчатого фага, его локализация выявлена с помощью программы ClustalW, анализ специфичности произведен с помощью иммуноферментного анализа. Полученный эпитоп также оказался схож с последовательностью, расположенной в тирозинкиназном домене рецептора, что говорит о возможном взаимодействии данного участка с МКА 4В8.

Ключевые слова: ErbB-2, фаговый дисплей, картирование эпитопа.

MAPPING OF AN EPITOPE OF ERBB-2 FOR RECOGNIZING BY MONOCLONAL
ANTIBODY 4B8 USING PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY

M.B. Borgoyakova^{1,2}, A.A. Ilichev^{1,2}

State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Novosibirsk region, Koltsovo¹

Novosibirsk State University, Novosibirsk²

Koltsovo-630559, Novosibirsk region, Russia, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR

e-mail: duker@vector.nsc.ru¹

This article presents identification and mapping of an epitope in the protein ErbB-2 which binds to the monoclonal antibody 4B8 intended for use in immunochemistry to estimate the level of ErbB-2 production. Epitope was identified by biopanning of phage display library based on filamentous phage. Location of the epitope was revealed in ClustalW program, analysis of specificity was carried out by ELISA. The epitope is also similar to the sequence on tyrosine kinase domain. It suggests a possible interaction of this site with 4B8.

Key words: ErbB-2, phage display, epitope mapping.

Белок ErbB-2 (HER-2, neu, p185) – член семейства тирозинкиназных рецепторов эпидермального фактора роста (ЭФР), которое включает ещё 3 рецептора (EGFR, ErbB-3 и -4) [5]. Они обладают сходной структурой, имеют общие лиганды и играют большую роль в процессах развития и дифференцировки тканей эпителиального, мезенхимального и нейрального происхождения [3]. Неактивные тирозинкиназные рецепторы ЭФР находятся в «закрытом» состоянии, после связывания с лигандом их конформация меняется, они димеризуются и в результате аутофосфорилирования

запускают каскад реакций митогенного характера. ErbB-2 отличается от остальных членов семейства отсутствием необходимости в лиганде и, соответственно, находится в постоянно «открытой» конформации [4, 7].

За счёт спонтанной полисомии 17-й хромосомы или амплификации гена, кодирующего белок ErbB-2, происходит гиперпродукция последнего, что приводит к его спонтанной активации. Запускаемый неконтролируемый каскад реакций вызывает гиперплазию ткани с последующей малигнизацией [1, 11].

Для эффективного иммунотерапевтического лечения рака молочной железы (РМЖ) необходимо предварительно оценить уровень продукции белка HER-2 (HER-2 статус) в каждом конкретном случае, так как принято считать, что гиперпродукция этого рецептора связана с более агрессивным течением заболевания. С этой целью в первую очередь проводят дешёвый иммуногистохимический анализ (ИГХ) опухолевой ткани с использованием поли- или моноклональных антител. Поскольку оценка зависит от выбранного антитела, метода фиксации и приготовления срезов, а также способа интерпретации полученной информации, результат получается довольно грубым [10]. В случае, когда ИГХ анализ не позволяет с достаточной точностью оценить HER-2-статус пациента, исследуют уровень амплификации гена *c-ErbB-2* с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*. Соответственно полученной информации о наличии гиперпродукции белка ErbB-2 назначают определённые схемы терапии. Этот подход является более точным, но и более дорогостоящим и трудоёмким [9].

Как было указано выше, первичная оценка HER-2-статуса производится с использованием различных антител. Исследуемое моноклональное антитело (МКАТ) 4В8, используемое для ИГХ, связывается с N-концом белка ErbB-2. Технология фагового дисплея в настоящее время является наиболее простым подходом к изучению белок-белковых взаимодействий, в том числе взаимодействия антиген-антитело. Нитчатые бактериофаги не имеют тропности к тканям млекопитающих, поэтому взаимодействие мишени с фагами из комбинаторной библиотеки обеспечивается исключительно за счет пептидных встроок. Последовательность такой встройки легко определить секвенированием, поскольку у нитчатых фагов существует прямая физическая связь между генотипом и фенотипом.

Целью исследования являлись картирование эпитопа, к которому специфично моноклональное антитело 4В8, с помощью биопеннинга фаговой пептидной библиотеки и проверка специфичности связывания отобранных мимотопов в ИФА.

Материал и методы

Антитела. Моноклональные антитела производства фирмы Abnova, использованные в данной работе, были получены с помощью гибридомной технологии. Клон 4В8 был отобран после иммунизации мышей синтетическим пептидом, яв-

ляющимся полным гомологом участка 22-122 а.о. человеческого ErbB-2. Для ИФА использовались анти-M13 антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (GE Healthcare).

Фаговая пептидная библиотека. В работе использовали штамм *Escherichia coli* ER2738 и фаговую пептидную библиотеку Ph.D.-7™ фирмы New England Biolabs, Inc. 7-мерная фаговая пептидная библиотека содержит все возможные варианты последовательностей пептидов, экспонированных на поверхности бактериофагов в составе минорного белка рIII. Каждый клон в библиотеке представлен ~1000 копий.

Среды и растворы. Использовали следующие среды: LB, 1,5 % агар, 0,6 % агар (на основе LB). Растворы: IPTG/Xgal, тетрациклина (методики приготовления описаны в инструкции к набору библиотеки), преципитирующий (20 % ПЭГ-6000, 2,5 М NaCl). Буферы: блокирующий (0,1 М NaHCO₃, pH 8,6, 0,5 % БСА, 0,02 % NaN₃), TBS (50 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 150 мМ NaCl), йодный (10 мМ Трис-HCl, pH 8,0, 1 мМ ЭДТА, 4 М NaI).

Аффинная селекция пептидов, специфически взаимодействующих с МКАТ 4В8, проводилась по схеме, указанной в инструкции, с модификациями. Для проведения всех трёх раундов селекции в лунки иммунологических планшетов вносили по 100 мкл раствора МКА 4В8 в концентрации 29 мкг/мл в 0,1 М NaHCO₃ (pH 8,6) и продолжали сорбцию в течение ночи при 4°C. Для первого раунда использовали 10 лунок, для второго и третьего – по 1 лунке. Тщательно удалив раствор антитела из лунок, в них вносили блокирующий буфер для предотвращения неспецифической сорбции фагов на пластик, инкубировали в течение 1 ч при 4°C. Затем проводили шестикратную отмывку в TBS, содержащем 0,1 % Твин-20 (для 2-го и 3-го раундов использовался 0,5 % Твин-20), и добавляли в лунки по 100 мкл разведённой в TBST фаговой пептидной библиотеки (~10¹¹ БОЕ/мл). Инкубировали библиотеку в течение часа при комнатной температуре. Несвязавшиеся фаги удаляли, десятикратно промывая лунки TBS+Твин, а связавшиеся фаги элюировали по следующей методике: добавляли в каждую лунку по 100 мкл 0,2 М глицинового буфера с HCl (pH 2,2), 0,1 % БСА, через 10 мин нейтрализовали буфер 15 мкл 1 М Трис-HCl (pH 9,1). Для увеличения количества фагов элюат амплифицировали в 20 мл разведённой 1:100

ErbB-2 1-60	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMLKRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVGQNL
immunogen	-----STQVCTGTDMLKRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVGQNL
10	-----TTDMKLR-----
12	-----TTDTKLR-----
11	-----ITDTKLR-----
15	-----ATDSKLR-----
21	-----YFDGKLR-----
01	-----YLDMKVR-----
29	-----GLDLKLR-----
23	-----VQDPKLR-----
27	-----HMDAKLR-----
19	-----IADFKLR-----
09	-----SPDAKMR-----
33	-----TTDVKMR-----
17	-----ITDYKMR-----
	* * *

Рис. 1. Часть выравнивания белка ErbB-2, иммуногена для наработки 4В8 и пептидов, отобранных в нашем исследовании с помощью фагового дисплея. Выравнивание осуществлялось на базе программы ClustalW

ночной культуры ER2738 в течение 4,5 ч на термошейкере при 37°C. Амплифицированный элюат очищали и использовали для следующего раунда. Элюат третьего раунда не амплифицировали. Для изоляции отдельных фагов его титровали на чувствительной культуре и переносили индивидуальные негативные колонии фаговых клонов в пробирку с 1 мл среды LB, содержащей разведенную 1:100 ночную культуру ER2738. Проводили раздельную амплификацию фаговых клонов в течение 4,5 ч на термошейкере при 37°C. Дважды центрифугировали и переносили по 500 мкл супернатанта в новые пробирки. Очищали фаговую ДНК с использованием йодного буфера.

Таблица

№ клона	Последовательность	Количество клонов
01	YLDMKVR	1
09	SPDAKMR	1
10	TTDMKLR	1
11	ITDTKLR	1
12	TTDTKLR	1
15	ATDSKLR	1
17	SVDWKLK	7
19	IADFKLR	1
21	YFDGKLR	12
23	VQDPKLR	1
27	HMDAKLR	1
29	GLDLKLR	1
33	TTDVKMR	1

Секвенирование ДНК потомков одного фагового клона для определения последовательностей встроок проводили на автоматическом капиллярном секвенаторе в ЦКП СО РАН «Геномика». Обработка результатов секвенирования производилась в программах Seaview, ClustalW.

Иммуноферментный анализ для оценки специфичности связывания отобранных фагов с иммобилизованным МКА 4В8 был выполнен на 96-луночных планшетах, лунки которых были покрыты антигеном в концентрации 2 мкг/мл после ночной инкубации при 4°C (для разведения использовался 0,1М NaHCO₃, pH 8,6). После инкубации с блокирующим буфером для уменьшения возможности неспецифического связывания и 6-кратной отмывки в TBST в лунки были добавлены фаговые клоны в концентрации 10¹⁰ БОЕ/мл, инкубация проводилась 1 ч при комнатной температуре. После отмывки были добавлены конъюгированные с пероксидазой анти-M13 антитела, разведенные 1:5000. Результат проявляли хромогеном ТМВ, регистрация сигнала проводилась при длине волны 450 нм. Было проведено четыре независимых ИФА.

Результаты и обсуждение

После трёх раундов аффинной селекции из неамплифицированного элюата последнего раунда были отобраны 30 фаговых клонов, в которых была определена последовательность встройки (таблица).

Все пептиды выравниваются, обнаруживая три консенсусных аминокислотных остатка (а.о.): D – аспарагиновая кислота, K – лизин, R – аргинин.

ErbB-2 951-1010	VYIMVWKCWMIDSECRPRFRELVSEFMRMARDPQRFVVIQMEDLGPASPLDSTFYRSLLE
10	-----TTDMKLR-----
12	-----TTDTKLR-----
11	-----ITDTKLR-----
19	-----IADFCLR-----
23	-----VQDPKLR-----
27	-----HMDAKLR-----
33	-----TTDVKMR-----
17	-----ITDYKMR-----
09	-----SPDAKMR-----
21	-----YFDGKLR-----
01	-----YLDMKVR-----
29	-----GLDLKLR-----
15	-----ATDSKLR-----
	: : *

Рис. 2. Взаимодействие отобранных фаговых клонов и фага mp9 на фоне бесфагового контроля (к). На оси ординат указаны значения оптической плотности (OD 450)

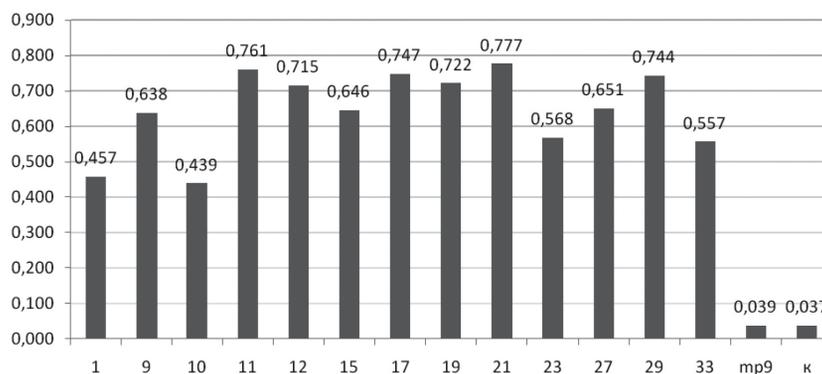


Рис. 3. Выравнивание участка тирозинкиназного домена и пептидов, отобранных в нашем исследовании, осуществлялось на базе программы ClustalW

Считается, что именно заряженные а.о. оказывают наибольшее влияние на связывание антител [6], поэтому кажется понятным, почему именно эти аминокислоты оказались в составе консенсусного мотива.

От производителя известно, что иммуноген, который использовали для наработки антитела 4В8, являлся синтетическим полипептидом, идентичным по аминокислотной последовательности участку 22–122 а.о. белка ErbB-2. Выравнивание полученных пептидов с иммуногеном и N-концом ErbB-2 позволило выявить локализацию указанных а.о. (рис. 1). Основываясь на этих результатах, с большой вероятностью мы можем предположить, что Asp-30, Lys-32, Arg-34 составляют линейный эпитоп, с которым связывается МКАТ 4В8. Стоит отметить также значимость а.о. в 33-й позиции: во всех клонах на этом месте расположены али-

фатические а.о., имеющие примерно одинаковый размер бокового радикала (Leu, Met, Val). По всей видимости, эта позиция также важна для связывания антитела.

Известно, что обнаруженный мотив в нативном ErbB-2 находится между β -складкой (25–27 а.о.) и α -спиралью (39–50 а.о.), то есть участок 30–34 а.о. имеет свободную конформацию и подходит для формирования эпитопа и взаимодействия с антителом (база данных Pubmed).

Результаты иммуноферментного анализа при наличии отрицательного контроля в виде фага mp9, не имеющего встройки, показывают высокую специфичность связывания отобранных фагов с исследуемым антителом (рис. 2).

Интересно, что полученный мотив в некоторой степени гомологичен участку, расположенному в тирозинкиназном домене ErbB-2 в позиции

964–968 а.о. (ECRPR). Аспарагиновая кислота на этом участке заменена на глутаминовую, а лизин – на аргинин (рис. 3).

Поскольку считается, что в этих парах (D-E, K-R) аминокислоты иммунологически тождественны в значительной степени, а аминокислота пролин (P) является алифатической с небольшим боковым радикалом, есть вероятность, что МКАТ 4В8 связывается также и с указанным участком, то есть, возможно, позволяет выявить гиперпродукцию С-концевого фрагмента ErbB-2 (C-terminal fragment, CTF) [8]. Существуют данные, указывающие на значимость увеличения количества тирозинкиназного домена внутри клетки в развитии опухоли. Новообразования, характеризующиеся повышенной продукцией CTF, оказываются устойчивы к определённым видам терапии, поэтому важно во время анализа ткани РМЖ также выявить наличие в цитоплазме и/или ядре CTF [2]. Исследуемое нами антитело 4В8, вероятно, может позволить в некоторой степени оценить наличие данной аномалии в ходе первичного анализа HER-2 статуса.

Таким образом, впервые нами был идентифицирован и локализован линейный эпитоп рецептора HER-2, с которым связывается МКА 4В8. Он представляет собой последовательность DMKLR, в которой ключевые позиции для связывания антитела занимают заряженные аминокислотные остатки: аспарагиновая кислота, лизин и аргинин. Также была выявлена последовательность в составе тирозинкиназного домена, которая, вероятно, может связывать МКА 4В8, поскольку содержит иммунологически тождественные указанным аминокислотные остатки. Следует отметить, что полученные данные подтверждают возможность использования МКА 4В8 для оценки HER-2 ста-

туса, а также дают возможность предположить, что оно может быть использовано для оценки продукции CTF. Результаты данного исследования могут быть интересны разработчикам различных методов диагностики (ИФА, ИГХ и др.), а также могут быть использованы при разработке вакцин нового поколения, например полиэпитопных вакцин или вакцин на основе дендритных клеток, нагруженных антигенами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akhdar A., Bronsard M., Lemieux R., Geha S. Détermination de l'amplification de l'oncogène *HER-2* dans le cancer du sein invasif par hybridation chromogénique in situ double couleur (dc-CISH): étude comparative avec l'hybridation fluorescente in situ (FISH) // *Ann. Pathol.* 2011. Vol. 31 (6). P. 472–479.
2. Anido J., Scaltriti M., Serra J. J. et al. Biosynthesis of tumorigenic HER2 C-terminal fragments by alternative initiation of translation // *EMBO J.* 2006. Vol. 25 (13). P. 3234–3244.
3. Casalini P., Iorio M.V., Galmozzi E., Menard S. Role of HER receptors family in development and differentiation // *J. Cell Physiol.* 2004. Vol. 200 (3). P. 343–350.
4. Cho H.S., Mason K., Ramyar K.X. et al. Structure of the extracellular region of HER-2 alone and in complex with the Herceptin Fab // *Nature.* 2003. Vol. 421 (6924). P. 756–760.
5. Fuller S.J., Sivarajah K., Suqden P.H. ErbB receptors, their ligands, and the consequences of their activation and inhibition in the myocardium // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2008. Vol. 44 (5). P. 831–854.
6. Maksyutov A.Z., Bachinskii A.G., Bazhan S.I. et al. Exclusion of HIV epitopes shared with human proteins is prerequisite for designing safer AIDS vaccines // *J. Clin. Virol.* 2004. Vol. 31, Suppl. 1. P. 26–38.
7. Normanno N., De Luca A., Bianco C. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer // *Gene.* 2006. Vol. 366 (1). P. 2–16.
8. Parra-Palau J. L., Pedersen K., Peg V. et al. A major role of p95/611-CTF, a carboxy-terminal fragment of HER-2, in the down-modulation of the estrogen receptor in HER2-positive breast cancers // *Cancer Res.* 2010. Vol. 70 (21). P. 8537–8546.
9. Sui W., Ou M., Chen J. et al. Comparison of immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridisation (FISH) assessment for Her-2 status in breast cancer // *World J. Surg. Oncol.* 2009. Vol. 7. P. 83.
10. Wang S., Saboorian M. H., Frenkel E. et al. Laboratory assessment of the status of Her-2/neu protein and oncogene in breast cancer specimens: comparison of immunohistochemistry assay with fluorescence in situ hybridization assays // *J. Clin. Pathol.* 2000. Vol. 53 (5). P. 374–381.
11. Zhan N., Dong W.G., Tang Y.F. et al. Analysis of HER2 gene amplification and protein expression in esophageal squamous cell carcinoma // *Med. Oncol.* 2012. Vol. 29 (2). P. 933–940.

Поступила 19.03.13

ИНТЕНСИВНОСТЬ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ, СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ РАЗВИТИИ РЕЦИДИВА РАКА ЯИЧНИКОВ

**И.А. Горошинская, Г.А. Неродо, Е.И. Сурикова, П.С. Качесова, В.В. Внуков,
Е.В. Шалашная, И.В. Нескубина, Л.А. Немашкалова, Н.А. Максимова,
М.М. Сергеева**

*ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, 63,
e-mail: rnioi.biochem@gmail.com*

У 61 больной раком яичников (цистаденокарцинома) III–IV стадий в состоянии ремиссии и с локальным рецидивом исследованы в плазме крови интенсивность хемилюминесценции, состояние ряда звеньев антиоксидантной системы (активность каталазы, церулоплазмينا) и уровень окислительной модификации белков общепринятыми спектрофотометрическими методами. Проанализирована динамика изученных показателей в крови больных с рецидивом в зависимости от интенсивности кровотока в рецидивной опухоли. Обнаружено достоверное изменение активности некоторых звеньев антиоксидантной системы, усиление хемилюминесценции плазмы крови. Показано увеличение степени окисленности белковых молекул, наиболее выраженное для продуктов основного характера (530 нм). По мере прогрессирования онкологического процесса при формировании рецидивной опухоли, усилении ее васкуляризации и увеличении скорости кровотока наблюдается противоположно направленная динамика уровня карбонильных производных нейтрального и основного характера (370 и 530 нм).

Ключевые слова: рецидив рака яичников, васкуляризация, антиоксидантная система, хемилюминесценция, окислительная модификация белков.

CHEMILUMINESCENCE INTENSITY, ANTIOXIDANT SYSTEM STATE AND OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN BLOOD IN OVARIAN CANCER PATIENTS WITH A LOCAL RECURRENT TUMOR

**I.A. Goroshinskaya, G.A. Nerodo, E.I. Surikova, P.S. Kachesova, V.V. Vnukov, E.V. Shalashnaja, I.V. Neskubina,
L.A. Nemashkalova, N.A. Maximova, M.M. Sergeeva**

*Rostov Research Oncologic Institute of Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don
63, 14 line, 344037-Rostov-on-Don, Russia, e-mail: rnioi.biochem@gmail.com*

The state of antioxidant system (the activity of catalase and ceruloplasmine), the intensity of chemiluminescence, and oxidative modification of proteins were studied in blood plasma of 61 patients with ovarian cancer (cystadenocarcinoma) III–IV stage in state of remission and ones with a local recurrent tumor. The dynamics of these indices was analyzed in dependence of recurrent tumor vascularization. The statistically significant changes of the activity of some links of antioxidant system were found, as well as chemiluminescence intensity increase in blood plasma. The level of oxidative modified protein molecules was raised, the most expressed for products of the main character (530 nm). The dynamics of level of carbonyl derivatives of the neutral and main character (370 and 530 nm) was opposite directed during intensification of recurrent tumour vascularization and increase in speed of blood-groove in a recurrent tumor.

Key words: local recurrence of ovarian cancer, vascularization, antioxidant system, chemiluminescence, oxidative modification of proteins.

Согласно современным представлениям, развитие и прогрессирование неоплазмы связано с усилением свободнорадикальных реакций, приводящих к окислительному повреждению различных биомолекул, в первую очередь белков [2, 13]. В отличие от продуктов перекисидации липидов, карбонильные производные белков плазмы крови

гораздо стабильнее, более специфичны, что делает их удобным маркером интенсивности окислительного стресса и открывает возможность использования в диагностике и прогнозировании развития патологии [4, 12].

Рак яичников (РЯ) по-прежнему остается актуальной проблемой здравоохранения. На фоне про-

водимого лечения РЯ является опухолью, склонной к рецидивированию в 20–30 % случаев. Несмотря на проводимую адьювантную терапию, даже при I–II стадиях рака яичников 25–30 % больных погибают в дальнейшем от прогрессирования опухолевого процесса [8]. Это указывает на актуальность изучения факторов, сопровождающих течение заболевания, а также обуславливает необходимость исследования механизмов рецидивирования и прогрессирования данной патологии.

Целью нашей работы было исследование окислительного потенциала плазмы крови и особенностей окислительной модификации белков плазмы крови больных раком яичников в состоянии ремиссии и при формировании рецидивной опухоли.

Материал и методы

В исследование была включена 61 больная раком яичников III–IV стадий (средний возраст – $54,2 \pm 3,7$ года) с серозной цистаденокарциномой. Все больные после неoadьювантной химиотерапии были прооперированы в объеме надвлагалищной ампутации матки с придатками с резекцией большого сальника и получили 6 курсов адьювантной химиотерапии, у всех была достигнута полная клиническая ремиссия. В процессе дальнейшего наблюдения у 50 больных в сроки от 11 до 24 мес появился локальный рецидив в полости малого таза, 11 – продолжали наблюдаться без рецидива. В стандартных режимах настройки ультразвукового сканера «IU 22 PHILIPS» и согласно разработанной в ФГБУ «РНИОИ» методики определения внутриопухолевых параметров артериального кровотока по максимальным артериальным скоростям оценивали интенсивность васкуляризации и скорость кровотока в рецидивных опухолях в контрольном доплеровском объеме [9]. По результатам УЗ-мониторинга среди больных с рецидивом у 10 женщин была аваскулярная рецидивная опухоль, у 20 в сосудах рецидивной опухоли регистрировали гиперинтенсивный кровоток.

В плазме крови больных оценивали светосумму быстрой вспышки перекись-индуцированной люминолзависимой хемиллюминесценции (ХЛ), отражающей содержание в системе супероксид-анион радикала и гидроксильного радикала [10]. Состояние антиокислительной системы плазмы крови оценивали по активности белкового антиоксиданта плазмы церулоплазмينا и активности

антиоксидантного фермента каталазы [5, 6]. Интенсивность окислительной модификации белков (ОМБ) плазмы крови оценивали по содержанию карбонильных производных аминокислотных остатков. Индуцированную ОМБ стимулировали реактивом Фентона. Продукты реакции регистрировали спектрофотометрически при $\lambda=370, 430$ и 530 нм [3]. Контрольную группу составили 30 здоровых женщин без онкологической и гинекологической патологии (средний возраст – $56,3 \pm 4,8$ года).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0, используя критерии Стьюдента и Вилкоксона–Манна–Уитни. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$ или имеющими тенденцию к достоверности при $0,1 > p > 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате исследования выявлены значительные изменения интенсивности окислительных процессов в плазме крови больных раком яичников (таблица). Во всех группах светосумма ХЛ плазмы крови значительно превышала значение в контрольной группе – в 2,1 раза ($p < 0,001$) в группе с ремиссией и в 1,9 раза ($p < 0,001$) в группе с рецидивом. При этом у больных с гиперинтенсивным кровотоком в рецидивной опухоли светосумма ХЛ была на 43,0 % выше, чем у больных с аваскулярным рецидивом ($p < 0,05$).

У больных в ремиссии и с рецидивом отмечено усиление активности каталазы на 34,9–41,3 % ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Наиболее значительное увеличение активности наблюдалось у больных с гиперинтенсивным кровотоком в рецидивной опухоли – на 54,6 % выше уровня контроля и на 29,1 % выше, чем у больных с аваскулярным рецидивом. В противоположность этому достоверные изменения активности церулоплазмينا наблюдали только у больных с аваскулярным рецидивом.

Несмотря на значительное усиление окислительного потенциала плазмы крови у больных раком яичников как в состоянии ремиссии, так и с рецидивом, содержание продуктов спонтанной ОМБ, регистрируемых при 370 и 430 нм, достоверно не отличалось от значений у здоровых женщин. При этом у больных в ремиссии достоверно увеличивалось содержание карбонильных производных при 530 нм – на 74,4 % по сравнению с контроль-

ным уровнем. У больных с рецидивом отмечалось достоверное увеличение уровня карбонильных производных, регистрируемых при 370 нм, – на 30,4 % и одновременно достоверное снижение уровня производных, регистрируемых при 530 нм, – на 56,6 % по сравнению со значениями в группе с ремиссией. Наиболее выраженные изменения этих показателей были отмечены в подгруппе больных с аваскулярным рецидивом.

Более значительные изменения были выявлены нами при анализе динамики интенсивности индуцированной (металлкатализируемой) ОМБ. В группах с ремиссией и с рецидивом содержание карбониль-

ных производных, регистрируемых при 370 нм, было достоверно ниже по сравнению с контрольной группой. Уровень продуктов ОМБ, регистрируемых при 430 нм, изменялся только у больных с рецидивом – возрастал на 21,0 % по сравнению с уровнем в контроле и на 31,4 % по сравнению с уровнем в группе с ремиссией. Наиболее выраженные изменения были отмечены при 530 нм, содержание карбонильных производных возросло в группе с ремиссией на 46,6 %, в группе с рецидивом – на 27,3 %. Более значительные изменения содержания карбонильных производных были отмечены в подгруппе больных с гиперинтенсивным кровотоком.

Таблица

Интенсивность окислительных процессов в плазме крови больных раком яичников

Группы	Окислительная модификация белка, 370 нм		Окислительная модификация белка, 430 нм		Окислительная модификация белка, 530 нм		Светосумма хемилюминесценции, имп./6 с	Каталаза, мкМ H ₂ O ₂ /мин	Церулоплазмин, мкМ/л
	Спонтанная ОМБ, мкМ/мг белка	Индукцированная ОМБ, мкМ/мг белка	Спонтанная ОМБ, усл. ед./мг белка	Индукцированная ОМБ, усл. ед./мг белка	Спонтанная ОМБ, усл. ед./мг белка	Индукцированная ОМБ, усл. ед./мг белка			
Контрольная группа (n=30)	28,11 ± 2,23	947,97 ± 48,57	0,39 ± 0,044	9,84 ± 0,91	0,082 ± 0,01	2,64 ± 0,22	3247,4 ± 245,2	34,4 ± 2,8	1,38 ± 0,09
Ремиссия (n=11)	23,31 ± 2,06	679,4 ± 58,6 p ₁ <0,01	0,474 ± 0,034	9,06 ± 0,79	0,143 ± 0,022 p ₁ <0,05	3,87 ± 0,36 p ₁ <0,01	6975,7 ± 885,9 p ₁ <0,001	46,4 ± 3,2 p ₁ <0,01	1,36 ± 0,16
Рецидив (n=50)	30,39 ± 2,54 p ₂ <0,05	782,8 ± 38,7 p ₁ <0,01	0,376 ± 0,033	11,91 ± 0,46 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01	0,062 ± 0,007 p ₂ <0,001	3,36 ± 0,30 0,1>p ₁ >0,05	6292,3 ± 902,5 p ₁ <0,001	48,6 ± 3,3 p ₁ <0,01	1,64 ± 0,10 0,1>p ₁ >0,05
Рецидив аваскулярный (n=10)	38,13 ± 3,13 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001	774,9 ± 45,69 p ₁ <0,05	0,503 ± 0,035 0,1>p ₁ >0,05	9,61 ± 0,58	0,097 ± 0,008 p ₂ <0,01	3,14 ± 0,47	5138,5 ± 500,1 p ₁ <0,01 0,1>p ₂ >0,05	41,2 ± 3,1	1,70 ± 0,08 p ₁ <0,05 0,1>p ₂ >0,05
Гиперинтенсивный кровоток в рецидивной опухоли (n=20)	32,02 ± 2,73 p ₂ <0,05	782,5 ± 56,1 p ₁ <0,05	0,469 ± 0,04	12,61 ± 0,76 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01 p ₃ <0,01	0,109 ± 0,012 0,1>p ₁ >0,05	3,48 ± 0,31 p ₁ <0,05	7348,5 ± 891,8 p ₁ <0,001 p ₃ <0,05	53,2 ± 3,8 p ₁ <0,001 p ₃ <0,05	1,63 ± 0,14

Примечание: p₁ – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой, p₂ – различия статистически значимы по сравнению с группой с ремиссией, p₃ – различия статистически значимы по сравнению с группой с аваскулярным рецидивом РЯ.

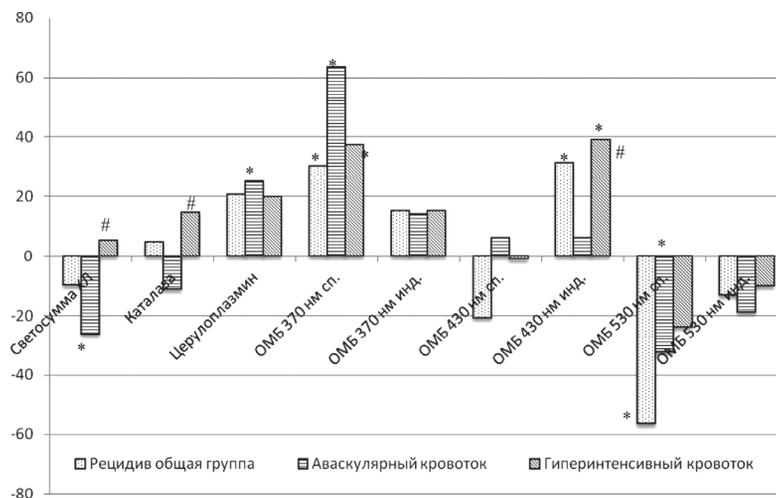


Рис. 1. Динамика окислительных процессов в плазме крови больных с рецидивом рака яичников (изменения в % по сравнению с показателями у больных в ремиссии).

Значимость различий: * – по отношению к группе с ремиссией, # – по отношению к группе с аваскулярным рецидивом

Анализ полученных результатов показал, что в состоянии ремиссии у больных раком яичников отмечается высокий уровень генерации свободных радикалов в плазме крови и некоторая активация ферментативного звена антиоксидантной системы плазмы (каталазы). В процессе прогрессирования заболевания (при формировании аваскулярной рецидивной опухоли, усилении васкуляризации в ней и интенсификации кровотока) показатели, характеризующие окислительный статус крови, изменяются однонаправленно (рис. 1). При этом закономерным является увеличение активности церулоплазмينا при формировании рецидивной опухоли по сравнению с уровнем у больных в ремиссии, что свидетельствует об активации обмена меди и железа при прогрессировании злокачественного процесса, подготовке к ангиогенезу [3, 14].

В отечественных и зарубежных исследованиях показано, что усиление редоксзависимой модификации белков наблюдается при опухолевом поражении различных органов [1, 10, 11, 15]. Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у больных раком яичников, находящихся в состоянии ремиссии после проведенного лечения, сохраняется состояние окислительного и карбонильного стресса, что проявляется в повышении уровня карбонильных производных, регистрируемых при 430 нм, и особенно значительно – при 530 нм.

Интенсивность окислительной модификации белковых молекул, в целом, нарастает по сравнению с уровнем у здоровых людей, при этом более выраженные изменения отмечены для продуктов основного характера, регистрируемых при 530 нм, что согласуется с данными литературы при онкологических и неонкологических заболеваниях [7, 10]. По мере прогрессирования онкологического процесса при формировании рецидивной опухоли, усилении ее васкуляризации и увеличении скорости кровотока наблюдаются неоднозначные изменения уровня карбонильных производных белков нейтрального и основного характера (370 и 530 нм). Обращает на себя внимание противоположно направленная динамика уровня данных продуктов, что, вероятно, может быть связано с различиями в условиях их образования, микроокружения, конформационными изменениями в молекуле белка и нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, при прогрессировании рака яичников с формированием рецидивной опухоли, усилением ее васкуляризации и интенсификацией опухолевого кровотока в крови происходят закономерные волнообразные изменения окислительного статуса крови, приводящие к дальнейшему развитию карбонильного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. и др. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови

- больных раком лёгкого // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 4 (34). С. 48–51.
2. *Болдырев А.А., Куклей М.Л.* Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге // *Нейрохимия*. 1996. № 13. С. 271–278.
3. *Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г.* Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопросы медицинской химии*. 1995. № 1. С. 24–26.
4. *Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В.* Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях // *Биомедицинская химия*. 2007. Т. 53, № 4. С. 351–372.
5. *Колб В.Г., Камышиников В.С.* Справочник по клинической химии. Минск, 1982. 326 с.
6. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
7. *Никольская В.А.* Изменение процессов окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы у больных с надпочечниковой недостаточностью, сопровождающейся гиперинсулинемией // *Уч. зап. Таврич. национ. унив. им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. 2010. Т. 23 (62), № 1. С. 84–90.
8. *Сергеева Н.С., Ермошина Н.В., Мишунина М.П. и др.* Использование опухолеассоциированных маркеров для диагностики и контроля за эффективностью терапии у больных с распространенным раком яичников: Пособие для врачей. М., 2005. С. 3–8.
9. *Сидоренко Ю.С., Максимова Н.А., Левченко Н.Е., Сергеева М.М.* Способ ультразвуковой диагностики локальных рецидивов рака яичников. Приоритетная справка на изобретение № 2012105175 от 14.02.2012.
10. *Тургунова Л.Г., Муравлева Л.Е., Досмагамбетова Р.С., Умбеталина Н.С.* Состояние окислительной модификации белков при острых и хронических лейкозах // <http://www.rusnauka.com/TIP/All/Medicine/33.html>
11. *Chih-Ching Y., Ching-Yu L., Ling-Ling H. et al.* Protein carbonyl levels, glutathione S-transferase polymorphisms and risk of colorectal cancer // *Carcinogenesis*. 2010. Vol. 31 (2). P. 228–233.
12. *Garcia-Garcia A., Rodriguez-Rocha H., Madayiputhiya N. et al.* Biomarkers of Protein Oxidation in Human Disease // *Curr. Mol. Med.* 2012. Vol. 12 (6). P. 681–697.
13. *Griffiths H.R.* Antioxidant and protein oxidation // *Free Radic. Res.* 2000. Vol. 33. P. 47–58.
14. *Harris E.D.* A Requirement for Copper in Angiogenesis // *Nutr. Rev.* 2004. Vol. 62 (2). P. 60–64.
15. *Rasheed Z., Ahmad R., Rasheed N., Ali R.* Reactive oxygen species damaged human serum albumin in patients with hepatocellular carcinoma // *J. Exp. Clin. Cancer. Res.* 2007. Vol. 26 (3). P. 395–404.

Поступила 22.04.13

БРЫЖЕЕЧНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ И В УСЛОВИЯХ ХИМИОТЕРАПИИ

Н.Б. Исакова^{1,2,3}, Е.В. Старкова^{1,2}

*ФГБУ «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» СО РАМН, г. Новосибирск¹
Новосибирский государственный университет²*

*ГБУЗ «Новосибирский областной онкологический диспансер»³
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2,
e-mail: nadin-isakova@mail.ru*

Цель исследования – выявление характерных морфофункциональных преобразований в брыжеечных лимфатических узлах при моделировании рака прямой кишки экспериментальным животным (крысы Вистар) и цитостатической терапии внутрибрюшинным путем (5-фторурацил и лейковарин). Спустя 11 мес после инстиляции химического канцерогена в стенке прямой кишки выявлена злокачественная эпителиальная опухоль – диморфный рак. В условиях роста злокачественной опухоли прямой кишки в брыжеечных лимфатических узлах выявлены признаки значительных изменений структурно-клеточной организации, активации процессов пролиферации и бласттрансформации в зонах, ответственных за клеточное и гуморальное звенья иммунитета. Подобные преобразования имели место на фоне внутриузлового перераспределения лимфы в корковые промежуточные синусы, что и повлияло на изменения цитоархитектоники в зонах органа, ответственных за процессы детоксикации и противоопухолевую резистентность. В условиях внутрибрюшинного способа введения химиопрепаратов наблюдалось сохранение активности процессов пролиферации и бласттрансформации в герминативных центрах и паракортикальной зоне, что, однако, сопровождалось признаками подавления иммунологических процессов в мозговых тяжах. Имела место активация непрямого пути тока лимфы, перераспределение ее в корковые промежуточные и мозговые синусы. Отмечается неравномерность структурно-клеточных преобразований в 1-м и 2-м брыжеечных лимфатических узлах, связанная с разными регионами сбора лимфы. Транспортная функция брыжеечных лимфатических узлов увеличилась.

Ключевые слова: экспериментальный рак прямой кишки, химиотерапия, внутрибрюшинное введение, брыжеечные лимфатические узлы, морфология.

MESENTERIC LYMPH NODES IN SIMULATED RECTAL CANCER UNDER CONDITIONS OF CHEMOTHERAPY

N.B. Isakova^{1,2,3}, E.V. Starkova^{1,2}

*Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk¹
Novosibirsk State University²,
Novosibirsk Cancer Center³*

2, Timakova Street, 630117-Novosibirsk, Russia, e-mail: nadin-isakova@mail.ru

The purpose of the study was to find out the typical morpho-functional changes in mesenteric lymph nodes of Wistar rats after modeling of rectal cancer and intraperitoneally injected cytostatic therapy with 5-fluorouracil and leucovorin. Malignant epithelial tumor (dimorphous cancer) invaded the wall of the rectum was detected 11 months after instillation of chemical carcinogens. Under conditions of tumor growth, significant changes in structural organization, activation of proliferative process and blast transformation in areas responsible for cellular and humoral immune response were found in mesenteric lymph nodes. Similar changes occurred against the background of intranodular redistribution of lymph to the cortical intermediate sinuses influencing on changes in cytoarchitectonics in areas responsible for detoxification processes and antitumor resistance. Under conditions of intraperitoneal injection of chemical agents, activity of proliferation and blast transformation in germinal centers and paracortical area was maintained, that, however, was followed by signs of suppression of immune responses in brain strands. Activation of indirect lymph flow and redistribution of lymph flow into cortical, intermediate and brain sinuses took place. Nonuniformity of structural transformations in 1 and 2 mesenteric lymph nodes related to different regions of lymph collection was noted. Increase in transport function of the mesenteric lymph nodes was observed.

Key words: experimental rectal cancer, chemotherapy, intraperitoneal injection, mesenteric lymph nodes, morphology.

В структуре заболеваемости и смертности среди злокачественных новообразований рак прямой кишки занимает ведущие позиции. Отмечается прирост абсолютного числа заболевших колоректальным раком за последние годы. Соответственно росту заболеваемости увеличивается и смертность, что указывает на высокую социальную значимость проблем диагностики и лечения рака прямой кишки [3].

При местнораспространенном раке прямой кишки проводится комбинированное лечение, которое включает радикальную операцию и лучевую терапию в сочетании с полихимиотерапией [1, 4], что позволяет добиться улучшения показателей выживаемости. Как правило, цитостатические препараты вводят внутривенно, что сопряжено с появлением побочных эффектов, связанных с их общим влиянием на организм, повреждением быстро обновляющихся клеточных систем [6].

В экспериментах на животных аналогом внутривенного введения является внутрибрюшинный. Химиопрепараты, попадающие в брюшную полость, всасываются сосудистыми сплетениями серозных оболочек и поступают в общий лимфо- и кровотоки. Структурно-функциональные изменения брыжеечных лимфатических узлов являются проявлением системного ответа лимфатической системы на цитостатическую терапию, а также реакцией на массивное всасывание химиопрепаратов через серозные оболочки, попадающие в регион лимфосбора брыжеечных лимфатических узлов. Изучение структурно-клеточной организации регионарных лимфатических узлов при моделируемом раке прямой кишки в условиях проведения системной химиотерапии позволяет оценить влияние такого воздействия на состояние звеньев лимфатической системы в целом и способности сохранения барьерно-детоксикационной функции, обеспечивающей их противоопухолевую резистентность и предотвращающей генерализацию эндотоксикоза.

Цель исследования – выявить характерные особенности структурной организации брыжеечных лимфатических узлов в условиях моделируемой злокачественной опухоли прямой кишки при внутрибрюшинном способе введения химиопрепаратов.

Материал и методы

Исследование проведено на 30 экспериментальных животных – крысах-самцах популяции

Wistar с массой 300–400 г (НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск). Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». У крыс-самцов индуцировали экспериментальную опухоль толстой кишки путем интравенных инстилляций химического канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина (МНМ). Вводили по 4 мг МНМ в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида один раз в неделю в течение 4 нед (всего 4 инстилляций) [7].

Определены экспериментальные группы: 1. Интактные животные (n=10). 2. Животные с индуцированной опухолью прямой кишки, без лечения (n=10); 3. Животные с индуцированной опухолью прямой кишки, леченные по схеме Мейо, внутрибрюшинное введение (n=10).

Химиотерапию экспериментальным животным проводили по схеме Мейо (5-фторурацил и лейковарин) спустя 11 мес после инстилляций МНМ в дозе, рассчитанной на кг веса животного. Внутрибрюшинное введение цитостатиков осуществлялось 3 курсами (3 дня каждую неделю) в дозе 0,1 мг лейковарина и 0,1 мг фторурацила.

Забор материала у животных проводился спустя 11 мес после инстилляций канцерогена, верификации роста опухоли и окончания курсов химиотерапии под эфирным наркозом. Для гистологического исследования забирали ткань опухоли, краниальные брыжеечные лимфатические узлы, расположенные вдоль краниальной брыжеечной артерии и ее ветвей, их делили на центральные (проксимальные и дистальные) и периферические [5]. Забирали околоободочные брыжеечные лимфатические узлы (центральные дистальные), залегающие в вентральном (№ 1) и дорзальном (№ 2) концах корневого тела в общем корне брыжейки восходящей и тонкой кишки.

По стандартной гистологической методике выполняли проводку материала, заливали объекты исследования в парафиновые блоки, с которых делали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также азур II и эозином. Гистологические препараты изучали на световых микроскопах NIKON (Япония), МБС-10 при увеличении 32, 400 и 1000 раз, с помощью окулярной тестовой системы производили морфометрию срезов и подсчет клеточных

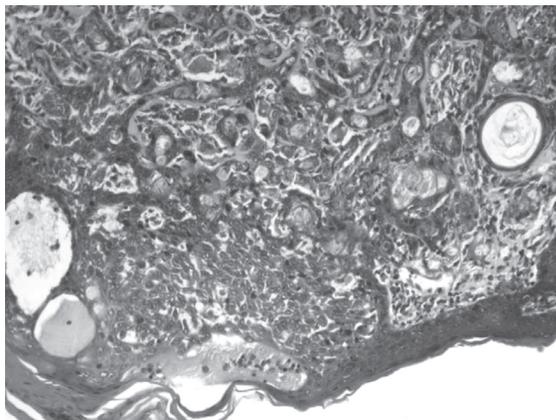


Рис. 1. Микрофото. Ткань опухоли в стенке прямой кишки у крыс. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 10×40

элементов в опухоли и отдельных структурно-функциональных зонах лимфатических узлов.

Статистическую обработку данных проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента для зависимых выборок и определяли значимость различий (*p* – стандартная ошибка среднего). Критический уровень значимости в данном исследовании принимался $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У всех экспериментальных животных спустя 11 мес после инстиляции химического канцерогена *N*-метил-*N*-нитрозомочевина в стенке прямой кишки выявлена злокачественная эпителиальная опухоль: сочетание умеренно дифференцированной аденокарциномы и плоскоклеточного ороговевающего рака (диморфный рак) с преобладанием железистого компонента. Макроскопически опухоль была представлена экзофитным бугристым образованием на широком основании. В некоторых случаях – это была опухоль язвенно-инфильтративного характера, с распространением на кожу вокруг ануса. Микроскопически опухоль построена из укрупненных округлых клеток типа эпителиальных с эксцентрично расположенными гиперхромными ядрами, вакуолизацией цитоплазмы. Имелись участки опухоли с плоскоклеточной дифференцировкой, встречаются «луковицы» ороговения и роговые кисты. Отмечался инфильтрирующий рост за пределы слизистой прямой кишки в подслизистый и мышечный слои, а иногда – в окружающую жировую клетчатку (рис. 1).

В условиях внутрибрюшинного способа введения химиопрепаратов структура ткани опухоли

преимущественно сохранялась, однако признаки лечебного патоморфоза наблюдались как в эпителиальном, так и в стромальном компонентах опухоли. Эпителиальные клетки, составляющие паренхиму опухоли, изменились, что выражалось в некотором увеличении размеров самих клеток и их ядер, ослаблении интенсивности окраски ядер, обильной вакуолизации цитоплазмы, появлении «размытости» контуров отдельных клеток, в наличии признаков кариопикноза и кариорексиса в части клеток. Железистые структуры часто «разорваны», содержимое желез слизистое с примесью большого количества нейтрофильных лейкоцитов. В строме опухоли определялась очаговая воспалительная реакция с примесью лимфоидных клеток различной степени зрелости, макрофагов, нейтрофильных лейкоцитов. Встречались фокусы некрозов и кровоизлияний. В участках погибшей паренхимы отмечались очаги созревающей грануляционной ткани. Исследование лечебного патоморфоза опухоли выявило наличие 2 способов гибели раковых клеток – некроза и апоптоза.

В условиях роста экспериментальной злокачественной опухоли прямой кишки в брыжеечных лимфатических узлах отмечались признаки фолликулярной гиперплазии с увеличением доли герминативных центров (на 56,42 % – в 1-м органе ($p < 0,001$) и на 61,74 % – во 2-м органе ($p < 0,001$)) и зоны мантии (на 64,34 % – в 1-м органе ($p < 0,001$) и на 61,02 % – во 2-м органе ($p < 0,001$)) (табл. 1). В клеточной популяции герминативных центров первого и второго органов статистически значимо возросла доля митозов, лимфобластов и средних лимфоцитов. При этом число зрелых лимфоцитов сократилось (табл. 2). Подобные изменения свидетельствуют об активации процессов клеточной пролиферации и бласттрансформации в условиях антигенной стимуляции в герминативных центрах. Число макрофагов оказалось ниже контрольных значений на 22,96 % во 2-м органе ($p < 0,01$).

Внутрибрюшинное введение химиопрепаратов не привело к изменению относительной площади вторичных лимфоидных узелков в целом, однако отмечался рост доли герминативных центров, наиболее выраженный во втором органе – на 22,22 % ($p < 0,001$). Размеры мантийной зоны статистически значимо сократились по сравнению с таковой в 1-й группе животных: на 25,63 % в первом лимфатическом узле ($p < 0,05$) и на 20,04 % – во втором ($p < 0,2$)

(табл. 1) Увеличение доли герминативных центров сопровождалось ростом числа низкодифференцированных и промежуточных форм лимфоидных клеток – лимфобластов и средних лимфоцитов, что указывает на активацию процессов бласттрансформации в этой структурной зоне. В пользу этого факта свидетельствует и увеличение ретикулярных клеток, как антигенпрезентирующих – на 19,86 % ($p < 0,02$) и на 19,16 % ($p < 0,02$) соответственно (табл. 2). Снижение митотической активности в

герминативных центрах первого брыжеечного лимфоузла (на 16,09 %, $p < 0,05$) может свидетельствовать о том, что стимуляция к пролиферации в герминативных центрах первого органа начинается раньше – по мере продвижения лимфы, насыщенной антигенным материалом, по лимфатическим путям и падения концентрации последних в момент попадания в следующий орган, а также с разными регионами сбора лимфы для первого и второго лимфоузлов. В пользу этого факта свидетельству-

Таблица 1

Относительные площади структурно-функциональных зон брыжеечных лимфатических узлов в условиях роста экспериментальной злокачественной опухоли прямой кишки

Структурно-функциональные зоны	1-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.	2-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.	3-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.
Герминативный центр	2,07 ± 0,16 % 1,5 ± 0,17 %	4,75 ± 0,46 %* 3,92 ± 0,22 %*	5,23 ± 0,37 % 5,04 ± 0,29 %**
Мантийная зона	1,99 ± 0,14 % 2,14 ± 0,11 %	5,58 ± 0,62 %* 5,49 ± 0,58 %*	4,15 ± 0,26 %** 4,39 ± 0,43 %**
Вторичные лимфоидные узелки	4,05 ± 0,16 % 3,64 ± 0,16 %	10,33 ± 0,69 %* 9,42 ± 0,9 %*	9,39 ± 0,5 % 9,44 ± 0,67 %
Первичные лимфоидные узелки	7,87 ± 0,29 % 8,23 ± 0,32 %	4,81 ± 1,21 %* 2,72 ± 0,26 %*	1,25 ± 0,16 %** 2,25 ± 0,19 %
Межузелковая зона	2,78 ± 0,08 % 2,69 ± 0,15 %	6,23 ± 0,71 %* 5,36 ± 0,53 %*	4,97 ± 0,32 % 5,77 ± 0,42 %
Паракортикальная зона	25,99 ± 1,15 % 22,55 ± 0,99 %	37,48 ± 2,86 %* 26,42 ± 2,54 %	20,42 ± 1,57 %** 33,07 ± 2,88 %
Мозговые тяжи	22,81 ± 0,71 % 24,21 ± 1,59 %	16,05 ± 1,56 %* 25,21 ± 4,33 %	25,82 ± 1,27 %** 20,52 ± 2,53 %
Мозговые синусы	29,41 ± 2,18 % 29,83 ± 1,37 %	16,05 ± 1,62 %* 23,49 ± 3,17 %	27,85 ± 2,99 %** 19,33 ± 2,37 %
Краевой синус	2,62 ± 0,13 % 3,64 ± 0,21 %	3,72 ± 0,1 %* 3,05 ± 0,42 %	3,81 ± 0,37 % 3,76 ± 0,39 %
Корковый промежуточный синус	1,03 ± 0,14 % 1,5 ± 0,09 %	1,93 ± 0,23 %* 1,71 ± 0,2 %	3,07 ± 0,43 %** 2,29 ± 0,32 %**
Капсула и трабекулы	3,41 ± 0,17 % 3,72 ± 0,12 %	3,4 ± 0,15 % 2,62 ± 0,25 %*	3,42 ± 0,29 % 3,57 ± 0,25 %
Корковое вещество	40,69 ± 1,86 % 37,1 ± 1,62 %	58,86 ± 3,58 %* 43,92 ± 3,99 %	36,03 ± 2,22 %** 50,53 ± 4,51 %
Мозговое вещество	52,23 ± 1,78 % 54,04 ± 1,62 %	32,09 ± 2,02 %* 48,71 ± 7,42 %	53,68 ± 3,49 %** 39,85 ± 4,36 %
В-зависимая зона	37,52 ± 2,09 % 38,77 ± 2,09 %	37,42 ± 3,5 % 42,71 ± 5,66 %	41,44 ± 3,03 % 37,98 ± 4,84 %
Т-зависимая зона	28,72 ± 1,17 % 25,24 ± 0,94 %	44,07 ± 3,72 %* 31,78 ± 3,03 %*	25,39 ± 1,85 %** 38,85 ± 3,26 %
Корково/мозговой индекс	0,78 ± 0,02 % 0,69 ± 0,02 %	1,83 ± 0,09 % 0,9 ± 0,01 %	0,67 ± 0,01 % 1,27 ± 0,02 %

Примечание: * – отличия статистически значимы по сравнению с 1-й группой животных ($p < 0,05$); ** – отличия статистически значимы по сравнению со 2-й группой животных ($p < 0,05$).

Цитоархитектоника структурно-функциональных зон брыжеечных лимфатических узлов самцов крыс линии Вистар в условиях роста экспериментальной злокачественной опухоли прямой кишки

Клеточные элементы	1-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.	2-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.	3-я группа животных, первый и второй брыжеечные л.у.
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков			
Иммунобласты	6,36 ± 0,29 % 7,46 ± 0,41 %	11,24 ± 0,29 %* 9,86 ± 0,27 %*	11,43 ± 0,33 % 11,24 ± 0,46 %**
Средние лимфоциты	15,79 ± 0,52 % 13,65 ± 0,55 %	21,43 ± 0,68 %* 18,98 ± 0,63 %*	24,1 ± 0,54 %** 19,68 ± 0,67 %
Малые лимфоциты	67,25 ± 1,48 % 69,72 ± 1,22 %	56,09 ± 1,18 %* 61,55 ± 1,79 %*	53,58 ± 0,93 % 58,43 ± 1,33 %
Макрофаги	4,43 ± 0,31 % 4,05 ± 0,26 %	3,84 ± 0,21 % 3,12 ± 0,15 %*	3,31 ± 0,24 % 3,4 ± 0,24 %
Ретикулярные клетки	3,08 ± 0,3 % 2,77 ± 0,34 %	3,31 ± 0,25 % 2,87 ± 0,15 %	4,13 ± 0,17 %** 3,55 ± 0,21 %**
Клетки с фигурами митозов	3,08 ± 0,3 % 2,35 ± 0,34 %	4,1 ± 0,16 %* 3,62 ± 0,15 %*	3,44 ± 0,22 %** 3,69 ± 0,18 %
Паракортикальная зона			
Иммунобласты	1,86 ± 0,11 % 1,19 ± 0,15 %	2,86 ± 0,12 %* 3,48 ± 0,15 %*	3,16 ± 0,18 % 4,71 ± 0,25 %**
Средние лимфоциты	5,01 ± 0,26 % 4,49 ± 0,18 %	9,57 ± 0,37 %* 11,06 ± 0,47 %*	11,93 ± 0,42 %** 9,42 ± 0,34 %**
Малые лимфоциты	87,85 ± 1,29 % 89,27 ± 1,1 %	82,09 ± 0,93 %* 80,17 ± 1,2 %*	79,47 ± 1,08 % 79,81 ± 1,02 %
Макрофаги	1,76 ± 0,2 % 2,02 ± 0,16 %	2,55 ± 0,14 %* 2,13 ± 0,12 %	2,72 ± 0,11 % 2,59 ± 0,14 %**
Ретикулярные клетки	2,51 ± 0,22 % 2,48 ± 0,21 %	2,47 ± 0,09 % 2,53 ± 0,09 %	2,19 ± 0,17 % 2,79 ± 0,12 %
Тучные клетки	1,02 ± 0,18 % 0,55 ± 0,12 %	0,46 ± 0,09 %* 0,63 ± 0,09 %	0,53 ± 0,11 % 0,67 ± 0,12 %
Мозговые тяжи			
Средние лимфоциты	2,53 ± 0,19 % 2,69 ± 0,15 %	3,84 ± 0,25 %* 3,64 ± 0,19 %*	5,01 ± 0,28 %** 3,05 ± 0,14 %**
Малые лимфоциты	23,79 ± 0,65 % 25,53 ± 0,71 %	22,09 ± 0,91 % 21,51 ± 0,78 %*	25,6 ± 0,64 %** 25,79 ± 1,05 %**
Иммунобласты	3,05 ± 0,13 % 3,63 ± 0,22 %	3,67 ± 0,17 %* 3,73 ± 0,17 %	3,99 ± 0,12 % 3,24 ± 0,19 %
Незрелые плазмоциты	15,37 ± 0,54 % 13,93 ± 0,49 %	16,59 ± 0,55 % 19,78 ± 0,46 %*	14,47 ± 0,59 %** 18,85 ± 0,45 %
Зрелые плазмоциты	49,68 ± 0,82 % 48,36 ± 0,94 %	45,42 ± 0,94 %* 43,45 ± 0,71 %*	43,69 ± 0,72 % 41,22 ± 0,74 %**
Макрофаги	1,16 ± 0,17 % 1,52 ± 0,22 %	2,71 ± 0,11 %* 2,6 ± 0,11 %	2,59 ± 0,15 % 2,77 ± 0,12 %
Ретикулярные клетки	2,84 ± 0,19 % 2,93 ± 0,22 %	2,88 ± 0,09 % 2,78 ± 0,14 %	2,41 ± 0,13 %** 2,59 ± 0,15 %
Клетки с фигурами митозов	1,58 ± 0,16 % 1,41 ± 0,21 %	2,79 ± 0,1 %* 2,52 ± 0,11 %*	2,23 ± 0,16 %** 2,49 ± 0,17 %

Продолжение таблицы 2

Мозговые синусы			
Средние лимфоциты	3,76 ± 0,33 %	4,82 ± 0,14 %*	4,53 ± 0,17 %
	4,51 ± 0,22 %	5,19 ± 0,21 %*	5,0 ± 0,2 %
Малые лимфоциты	54,01 ± 1,74 %	46,19 ± 0,96 %*	47,15 ± 0,79 %
	52,94 ± 1,16 %	41,91 ± 0,75 %*	45,42 ± 0,81 %**
Иммунобласты	1,38 ± 0,2 %	2,45 ± 0,1 %*	1,77 ± 0,24 %**
	1,38 ± 0,16 %	2,52 ± 0,16 %*	2,55 ± 0,17 %
Незрелые плазмоциты	2,76 ± 0,22 %	6,57 ± 0,22 %*	7,28 ± 0,19 %**
	3,0 ± 0,26 %	6,2 ± 0,24 %*	6,61 ± 0,32 %
Зрелые плазмоциты	31,7 ± 0,85 %	34,01 ± 0,85 %	33,27 ± 0,75 %
	32,67 ± 0,69 %	38,56 ± 1,05 %*	34,75 ± 0,78 %**
Макрофаги	1,38 ± 0,16 %	2,28 ± 0,12 %*	2,36 ± 0,18 %
	1,75 ± 0,22 %	2,09 ± 0,16 %	1,98 ± 0,14 %
Ретикулярные клетки	3,76 ± 0,24 %	2,89 ± 0,13 %*	2,66 ± 0,15 %
	3,0 ± 0,22 %	2,77 ± 0,17 %	3,12 ± 0,14 %
Тучные клетки	1,25 ± 0,12 %	0,79 ± 0,13 %*	0,98 ± 0,17 %
	0,75 ± 0,16 %	0,75 ± 0,13 %	0,57 ± 0,12 %

Примечание: * – отличия статистически значимы по сравнению с 1-й группой животных ($p < 0,05$); ** – отличия статистически значимы по сравнению со 2-й группой животных ($p < 0,05$).

ют и более выраженные размеры герминативных центров во втором органе.

Развитие злокачественной опухоли прямой кишки привело к увеличению удельных размеров межфолликулярной зоны в обоих брыжеечных лимфатических узлах. Морфометрические показатели паракортикальной зоны первого органа статистически значимо выросли (на 30,66 %, $p < 0,001$), во втором органе наблюдалась тенденция к увеличению. Паракортикальная гиперплазия сопровождалась увеличением числа лимфобластов и средних лимфоцитов и сокращением числа зрелых лимфоцитов (табл. 2). Такие преобразования свидетельствуют об активации процессов бласттрансформации в этой зоне брыжеечных лимфатических узлов. Увеличение макрофагальной активности в первом органе служит доказательством вышесказанного.

При внутрибрюшинном введении цитостатиков наблюдалось сокращение доли паракортикальной зоны в первом органе, что, однако, сопровождалось ростом числа средних лимфоцитов на 19,78 % ($p < 0,001$). Во 2-м органе отмечалось увеличение относительного количества лимфобластов на 26,12 %, ($p < 0,05$), при отсутствии изменений размеров паракортикальной зоны. Такие преобразования указывают на сохранение активности процессов бласттрансформации в исследуемой структурной зоне первого и второго органов. Увеличение содер-

жания моноцитарных макрофагов во втором органе на 17,76 %, ($p < 0,02$), как антигенпрезентирующих клеток служит доказательством вышесказанного (рис. 2).

Развитие злокачественной опухоли прямой кишки привело в первом брыжеечном лимфатическом узле к сокращению относительной площади мозговых тяжей на 29,64 % ($p < 0,001$), что, однако, сопровождалось статистически значимым увеличением числа средних лимфоцитов, плазмобластов, незрелых плазмоцитов и макрофагов (табл. 1, 2). Во

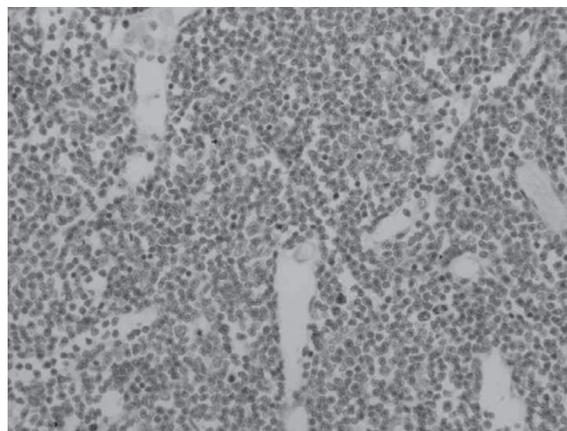


Рис. 2. Микрофото. Брыжеечный лимфатический узел. Паракортикальная гиперплазия. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 10×40

втором органе, в отсутствие изменений размеров изучаемой зоны, имело место увеличение числа средних лимфоцитов и незрелых плазмоцитов. В мозговых тяжах обоих брыжеечных лимфатических узлов отмечается рост пролиферативной активности клеток (на 43,37 % – в 1-м органе ($p < 0,001$) и на 44,08 % – во 2-м ($p < 0,001$)). Увеличение числа низкодифференцированных и промежуточных форм плазматических клеток сопровождалось сокращением числа зрелых плазмоцитов.

Внутрибрюшинное введение цитостатиков привело к увеличению доли мозговых тяжей в первом органе (на 37,84 %, $p < 0,001$), что сопровождалось ростом числа средних (на 23,35 %, $p < 0,01$) и малых лимфоцитов (на 13,71 %, $p < 0,01$). Однако имело место сокращение числа незрелых плазмоцитов (на 12,78 %, $p < 0,02$), как промежуточных форм на пути образования плазматических клеток, а также ретикулярных клеток (на 16,32 %, $p < 0,01$), как антигенпрезентирующих клеток и клеток на стадии митотического деления (на 20,07 %, $p < 0,01$), что указывает на подавление активности гуморальных иммунологических процессов в этой зоне первого органа [2] в условиях введения цитостатических препаратов (табл. 1, 2).

Во втором лимфатическом узле размеры мозговых тяжей имели тенденцию к сокращению, что сопровождалось уменьшением числа средних лимфоцитов (на 13,46 %, $p < 0,05$) и увеличением числа зрелых лимфоцитов (на 16,59 %, $p < 0,01$). Внутрибрюшинный способ введения химиопрепаратов не повлиял на количественные изменения низкодифференцированных форм клеток плазматического ряда в мозговых тяжах второго органа, но число зрелых плазматических клеток несколько сократилось (на 5,13 %, $p < 0,05$).

В условиях роста злокачественной опухоли прямой кишки относительные размеры мозговых синусов в первом брыжеечном лимфатическом узле сократились на 45,43 % (или в 1,83 раза, $p < 0,001$), а краевого и коркового промежуточного синусов увеличились (на 29,57 % ($p < 0,001$) и 46,63 % ($p < 0,001$) соответственно). Такие изменения свидетельствуют об активном прямом пути транспорта лимфы, однако более выраженном лимфонополнении корковых промежуточных синусов, что, вероятно, и повлияло на изменения citoархитектоники в этой и других структурных зонах органа. Во втором брыжеечном лимфатическом узле наблюдалась

тенденция к уменьшению размеров мозговых синусов, в отсутствие изменений со стороны краевого и коркового промежуточного синусов.

В мозговых синусах отмечаются признаки цитоза: увеличение процентного содержания средних лимфоцитов, всех форм плазматических клеток, макрофагов. Доля ретикулярных и тучных клеток в мозговых синусах первого брыжеечного лимфатического узла значительно сократилась. В обоих органах уменьшилось число зрелых лимфоцитов (табл. 2).

Внутрибрюшинное введение химиопрепаратов привело к увеличению площади мозговых (на 42,37 %, $p < 0,001$) и корковых промежуточных синусов (на 37,13 %, $p < 0,05$) в первом брыжеечном лимфатическом узле (табл. 1), что указывает на активацию непрямого пути тока лимфы и способности к депонированию лимфы в органе. В цитологическом составе имело место уменьшение числа плазмобластов (на 27,76 %, $p < 0,02$) и увеличение числа незрелых плазмоцитов (на 9,75 %, $p < 0,05$).

Во втором органе, в отсутствие изменений размеров мозговых синусов, отмечалась тенденция к увеличению доли корковых промежуточных синусов (на 25,33 %, $p < 0,2$), что указывает на внутриузловое перераспределение лимфы, включающее корковые промежуточные синусы, при этом – замедление лимфотока, более значительное его лимфонополнение, чем во 2-й группе, однако менее выраженное, чем в первом органе. Увеличилось число малых лимфоцитов (на 7,73 %, $p < 0,01$) и зрелых плазматических клеток (на 9,88 %, $p < 0,01$).

Структурные изменения обоих брыжеечных лимфатических узлов в условиях развития злокачественной опухоли прямой кишки привели к увеличению доли коркового вещества и сокращению доли мозгового вещества (в первом органе эти изменения являются статистически значимыми). Относительные размеры зоны, населенной преимущественно В-лимфоцитами, не изменились, а размеры зоны, ответственной за рост и дифференцировку Т-лимфоцитов, значительно увеличились (табл. 1).

Преобразования микроанатомической организации брыжеечных лимфатических узлов при внутрибрюшинном введении химиопрепаратов в первом лимфатическом узле привели к статистически значимому сокращению относительной площади коркового вещества (на 38,79 %, $p < 0,001$)

и увеличению мозгового вещества (на 40,22 %, $p < 0,001$). Во 2-м брыжеечном лимфоузле значимых изменений не произошло (табл. 1). Размеры зоны, населенной преимущественно В-лимфоцитами, не претерпели достоверно значимых изменений. Совокупная площадь Т-зависимой зоны в первом брыжеечном лимфатическом узле сократилась (на 42,39 %, $p < 0,001$). Во втором органе этот показатель не изменился.

В условиях развития рака прямой кишки корково-мозговой индекс для первого брыжеечного лимфатического узла составил 1,83, соответственно, по морфотипу с фрагментированного (в группе интактных животных) он меняется на компактный. Второй брыжеечный лимфатический узел остался узлом фрагментированного морфотипа. В группе с внутрибрюшинным введением цитостатиков корково-мозговой индекс для первого лимфатического узла составил 0,67, а для второго – 1,27.

Заключение

В условиях роста злокачественной опухоли прямой кишки в брыжеечных лимфатических узлах выявлены признаки значительных изменений структурно-клеточной организации, активации процессов пролиферации и бласттрансформации в зонах, ответственных за клеточное и гуморальное звено иммунитета, признаки плазматизации мозговых тяжей, выраженного синусного цитоза. Подобные преобразования имели место на фоне внутриузлового перераспределения лимфы в корковые промежуточные синусы, что и повлияло на изменения цитоархитектоники в зонах органа, ответственных за процессы детоксикации и противоопухолевую резистентность.

При внутрибрюшинном введении химиопрепаратов наблюдалось сохранение активности процессов пролиферации и бласттрансформации в герминативных центрах и паракортикальной зоне, что, однако, сопровождалось признаками подавления иммунологических процессов в мозговых тяжах. Выявлена активация непрямого пути тока лимфы, перераспределение ее в корковые промежуточные и мозговые синусы. Отмечается неравномерность структурно-клеточных преобразований в 1-м и 2-м брыжеечных лимфатических узлах, связанная с разными регионами сбора лимфы. Транспортная функция брыжеечных лимфатических узлов увеличилась.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев С.Г., Старцева Ж.А., Тарасова А.С. и др. Результаты комбинированного лечения рака прямой кишки с применением пролонгированной предоперационной химиолучевой терапии // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 6 (54). С. 5–12.
2. Бородин Ю.И., Труфакин В.А., Трясучев П.М. Регионарные особенности клеточного состава различных зон лимфатических узлов взрослого человека // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1985. Т. 88, № 4. С. 76–78.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2008 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2010. Т. 21, № 2 (80). Прил. № 1.
4. Кузиков М.А. Результаты предоперационной химиолучевой терапии рака прямой кишки // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 2 (50). С. 61–64.
5. Петренко В.М. Топография брыжеечных лимфатических узлов белой крысы // Успехи современного естествознания. 2011. № 9. С. 44–48.
6. Иванова Ф.Г., Гольдберг В.Е., Горбунова В.А. Анализ эффективности и токсичности стандартной химиотерапии при раке толстой кишки // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 2 (38). С. 47–50.
7. Narisawa T., Sato M., Tani M. et al. Inhibition of development of methylnitrosourea-induced rat colon tumors by indomethacin treatment // Cancer Res. 1981. Vol. 41. P. 1954–1957.

Поступила 27.05.13

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

УДК: 616-006.04 (571.51)

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ НАСЕЛЕНИЯ Г. НОРИЛЬСКА. ФОРМИРОВАНИЕ ГРУПП ПОВЫШЕННОГО РИСКА

О.А. Ананина¹, Л.Ф. Писарева¹, И.Н. Одинцова¹, Е.Л. Христенко², Г.А. Попкова³,
И.Д. Христенко³

*ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹
МУ «Управление здравоохранения Администрации г. Норильска»²
МБУЗ «Городская поликлиника № 1», г. Норильск³
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: epidem@oncology.tomsk.ru¹*

Изучена заболеваемость злокачественными новообразованиями населения г. Норильска. Показано, что структура онкологической заболеваемости отличается от таковой по РФ, у мужчин преобладают опухоли пищеварительного тракта, у женщин – опухоли репродуктивной системы. Намечилась тенденция роста показателей заболеваемости, максимальный прирост отмечается в возрасте старше 60 лет. По материалам исследования предложена программа автоматического тестирования для формирования группы повышенного риска развития рака молочной железы.

Ключевые слова: заболеваемость, злокачественные новообразования, г. Норильск, группа повышенного риска, информационная программа.

CANCER INCIDENCE AMONG POPULATION OF NORILSK. FORMATION OF HIGH RISK GROUPS FOR CANCER

*O.A. Ananina¹, L.F. Pisareva¹, I.N. Odintsova¹, E.L. Khristenko², G.A. Popkova³, I.D. Khristenko³
Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk¹,
Department of Health Administration, Norilsk²,
Municipal Hospital № 1», Norilsk³
5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia,
e-mail: epidem@oncology.tomsk.ru¹*

Cancer incidence among population of Norilsk city has been shown to be different from that of Russian Federation. Digestive system cancer is the most common form of cancer affecting men and reproductive system cancer is the leading cancer in women. Cancer incidence rates tend to increase reaching peak incidence in patients aged over 60 years. According to the study results, the automatic test program was suggested for forming groups at high risk for breast cancer.

Key words: cancer incidence, city of Norilsk, group at high risk of cancer, information program.

Город Норильск – крупнейший в Красноярском крае металлургический центр, входящий в приоритетный список городов Российской Федерации с наибольшими выбросами загрязняющих веществ от стационарных источников [1, 5]. Экологическая ситуация, в сочетании с природно-климатическими и социально-гигиеническими факторами, несомненно, влияет на состояние здоровья населения. В настоящее время одной из важнейших медицинских и социально-экономических проблем являются злокачественные новообразования, занимающие

второе место (15,0 %), после болезней сердечно-сосудистой системы, среди причин смертности населения России [3].

В государственной программе «Развитие здравоохранения», утвержденной распоряжением Правительства РФ от 24 декабря 2012 г. № 2511-р, предусматриваются задачи, к решению которых должны быть привлечены не только онкологическая, но и общая лечебная служба, первичное звено здравоохранения. К ним относятся скрининг, мониторинг, диспансерное наблюдение; сни-

жение смертности населения от онкологических заболеваний и увеличение продолжительности жизни; формирование здорового образа жизни населения; повышение качества и доступности онкологической помощи.

Эпидемиологические исследования являются неотъемлемой частью планирования профилактических и лечебных мероприятий в любой популяции. Статистические и эпидемиологические данные о заболеваемости населения злокачественными новообразованиями и смертности от них являются основой для разработки региональных противораковых программ, дают возможность принятия аргументированных управленческих решений и регулирования финансовых потоков, идущих на медицинские программы целевого назначения.

Цель исследования – изучение особенностей распространения злокачественных новообразований среди населения г. Норильска.

Материал и методы

Заболеваемость злокачественными новообразованиями (С00-С97) женского и мужского населения г. Норильска изучалась за период 2002–2011 гг. на основании данных официальной учетно-отчетной медицинской документации (отчетные формы № 7 «Сведения о заболеваниях злокачественными новообразованиями») и Федеральной службы государственной статистики РФ. Рассчитывались структура заболеваемости (%), средний возраст заболевших, стандартизованные показатели заболеваемости (СП, мировой стандарт, $\frac{0}{0000}$), темп их прироста [6]. Показатели сравнивались с данными по России [3].

Результаты

В 2011 г. в Норильске было выявлено 382 новых случая злокачественных новообразований, женщины составили 58,4 %, мужчины – 41,6 %. Число заболевших в 2011 г. на 7,0 % больше, чем в 2002 г. (357). Структура онкологической заболеваемости норильчан коренным образом отличается от таковой в Российской Федерации, за исключением того, что, как и по России, первое место у мужчин занимают злокачественные новообразования трахеи, бронхов, легкого – 19,5 % (РФ – 18,9 %), у женщин – рак молочной железы – 26,0 % (РФ – 20,4 %). Ведущими локализациями после рака легкого у мужского населения являются: опухоли почки – 10,7 % (РФ – 4,5 %), желудка – 7,5 %

(РФ – 9,1 %), прямой кишки, ректосигмоидного соединения, ануса – 7,5 % (РФ – 5,2 %) и гортани – 6,9 % (РФ – 2,6 %). Значителен удельный вес злокачественных новообразований предстательной железы – 6,3 % (РФ – 11,9 %), мочевого пузыря – 6,3 % (РФ – 4,5 %), кожи – 5,7 % (РФ – 10,1 %), лимфатической и кроветворной ткани – 4,4 %, (РФ – 5,0 %). Наибольшую по удельному весу группу у мужчин формируют злокачественные новообразования органов пищеварительного тракта (27,7 %), в отличие от РФ (мочеполовая система), дыхательной системы (26,4 %) и мочеполовой системы (23,3 %).

В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения после опухолей молочной железы следуют новообразования тела матки – 12,6 % (РФ – 7,4 %), прямой кишки, ректосигмоидного соединения, ануса – 8,1 % (РФ – 4,7 %), ободочной кишки – 7,2 % (РФ – 7,0 %), шейки матки – 6,3 % (РФ – 5,3 %), кожи – 5,8 % (РФ – 14,7 %), яичника – 4,5 % (РФ – 4,6 %), желудка – 4,1 % (РФ – 5,8 %), почки – 3,2 % (РФ – 3,0 %), лимфатической и кроветворной ткани – 3,1 % (РФ – 4,4 %). Максимальный удельный вес имеют злокачественные новообразования репродуктивной системы – 49,3 % (РФ – 38,4 %), при этом опухоли половых органов составляют 23,3% от всех злокачественных новообразований (РФ – 18,0 %). Удельный вес злокачественных новообразований органов пищеварения (23,3 %) и дыхания (3,6 %) ниже аналогичного показателя в мужской популяции (27,7 % и 26,4 % соответственно). Максимальное число заболеваний приходится и у мужчин, и у женщин на возрастную группу 45–59 лет (59,7 % и 55,2 % соответственно).

Интенсивный показатель заболеваемости у мужчин в 2011 г. составил 180,7 (доверительный интервал (ДИ): 151,94–202,0), стандартизованный – 277,6 (ДИ 207,4–347,8) на 100 000 населения, что ниже данных по РФ (363,2 и 273,5 соответственно). С 2002 по 2011 г. показатели выросли на 27,0 % и 58,0 % соответственно. Интенсивный показатель у женского населения (252,7; ДИ 218,8–289,6) выше, чем у мужского, и его прирост за 10-летний период составил 55,1 %, стандартизованный показатель (250,8; ДИ 209,4–292,2) вырос на 42,7%. Оба показателя статистически значимо ниже, чем в среднем по РФ (207,9; ДИ 207,1–208,8 и 367,4; ДИ 366,0–368,7 соответственно).

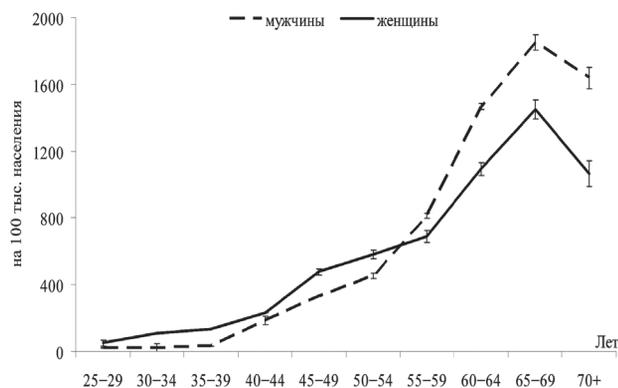


Рис. 1. Половозрастные показатели заболеваемости злокачественными новообразованиями населения г. Норильска (2011 г.)

Главный фактор риска развития злокачественного новообразования – возраст. Проблемы старения и рака тесно связаны между собой, чем старше население, тем выше у него риск развития рака. Более низкую заболеваемость злокачественными новообразованиями популяции г. Норильска и ее рост во времени можно связать с демографическими характеристиками, так, средний возраст жителей города в 2010 г. составил 33,6 года, в то время как в РФ – 41,2 года. В динамике, так же как и в Российской Федерации, отмечается старение населения в г. Норильске, хотя это явление выражено в меньшей степени. Средний возраст норильчан в 2010 г. по отношению к 2002 г. увеличился с 32,6 до 33,6 года, у мужчин – с 32,5 до 32,9 года, у женщин – с 34,0 до 34,4 года. Выросла численность и доля в общей структуре населения лиц старше трудоспособного возраста (мужчины старше 60 лет, женщины старше 55 лет) – за 5 лет (2006–2010 гг.) с 11844 до 17877 человек и с 5,53 % до 8,8 % соответственно [2]. Увеличился средний возраст заболевших раком, у мужчин с 51,8 (2002 г.) до 53,1 (2011 г.) года, у женщин – с 51,5 (2002 г.) до 52,5 (2011 г.) года, но он ниже, чем в среднем по РФ (64,1 и 63,6 года соответственно).

Максимальный уровень совокупной онкологической заболеваемости в популяции г. Норильска отмечается в возрастной группе 65–69 лет – 1583,1 на 100 000 населения соответствующего возраста (РФ – 75–79 лет). До 50–54 лет показатели заболеваемости в женской популяции выше, чем в мужской. Напротив, в более старшем возрасте у мужчин показатели выше (рис. 1).

Рис. 2. Форма модуля компьютерной программы «ОИР», начало опроса

Динамика онкологической заболеваемости различных возрастных групп населения неоднородна. За 2002–2011 гг. интенсивный показатель заболеваемости мужского населения рос: в возрасте 0–29 лет – на 9,5 %, в 30–59 лет – на 22,4 %. У женского населения он снизился на 5,3 % в возрасте 0–29 лет и увеличился на 50,9 % в возрасте 30–59 лет. Максимальный прирост в возрастной группе свыше 60 лет: у мужчин – на 128,3 %, у женщин – на 87,8 %.

В 2011 г. кумулятивный риск, т.е. риск развития злокачественного заболевания, которому подверглось бы лицо в течение жизни при условии отсутствия всех причин смерти, для жителя г. Норильска составил 26,4 % (РФ – 23,9 %), для мужчин – 29,1 % (РФ – 28,6 %), для женщин – 25,6 % (РФ – 21,3 %). За 10-летний период этот показатель для мужского населения вырос на 10,6 %, женского – на 10,1 %.

Среди злокачественных новообразований женского населения г. Норильска является актуальной проблема рака молочной железы (РМЖ) в связи с высоким удельным весом данной локализации в структуре онкологической заболеваемости и наметившейся тенденцией роста заболеваемости, особенно в старших возрастных группах [4, 7]. Состояние онкологической службы по РМЖ в г. Норильске (2010 г.) характеризуется низкой выявляемостью на профосмотре – 2,2 % (РФ – 25,8 %), относительно высокой одногодичной летальностью – 10,4 % (РФ – 9,1 %). В связи с этим в плане профилактики данного заболевания необходимо выявление предопухолевой и

опухолевой патологии молочной железы на ранних стадиях среди контингента так называемых здоровых женщин.

Проведенное эпидемиологическое исследование позволило с помощью, разработанной в лаборатории эпидемиологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН информационной системы («ПИФАРО») (Исследование факторов риска в онкологии) [Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2007613323] выявить факторы риска развития РМЖ в женской популяции г. Норильска, которые легли в основу прогностической модели. Модель была введена в автоматизированную компьютерную программу по анкетированию женщин «ОИР» (Оценка индивидуального риска) [Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2010616823], предназначенную для оценки индивидуального риска женщины и формирования групп повышенного риска (рис. 2).

Формирование групп повышенного риска РМЖ позволяет сузить круг лиц, подлежащих более глубокому обследованию, способствует обеспечению своевременного обследования и лечения женщин, экономит время врача и диагностические средства. Использование программы позволит выявлять ранние формы РМЖ, что будет способствовать улучшению прогноза, повышению качества жизни женщин и снижению смертности.

В 2013 г. во исполнение приказов МЗ РФ от 06.12.2012 № 1011н «Об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра населения», от 03.12.2012 № 1006н «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных возрастных групп взрослого населения», приказа МЗ Красноярского края от 20.02.2013 № 99-орг. на территории Норильска начата диспансеризация взрослого населения, основной целью которой является раннее выявление хронических неинфекционных заболеваний, являющихся основной причиной инвалидности и преждевременной смертности населения, к которым относятся и злокачественные новообразования. Важной осо-

бенностью данной диспансеризации является не только раннее выявление заболеваний и факторов риска их развития, но и проведение всем гражданам, имеющим указанные факторы риска, краткого профилактического консультирования. На официальном сайте г. Норильска выставлена разработанная программа тестирования и предлагается всем желающим пройти анонимное тестирование с целью выявления индивидуального риска развития рака молочной железы.

Таким образом, структура онкологической заболеваемости населения г. Норильска отличается от таковой по РФ, у мужчин преобладают опухоли пищеварительного тракта, у женщин опухоли репродуктивной системы составляют 49,3 % от всех локализаций. Показатели заболеваемости ниже, чем по стране в целом, однако наметилась четкая тенденция их роста, при этом заболевают норильчане в более молодом возрасте. Использование автоматического тестирования позволит формировать группу повышенного риска развития рака молочной железы. Внедрение информационных технологий в сочетании с современным медицинским оборудованием необходимо для развития превентивной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2010 году» // <http://www.mnr.gov.ru>. С. 388.
2. Государственный доклад «О состоянии здоровья населения муниципального образования город Норильск в 2010 году». Норильск, 2011. 430 с.
3. Злокачественные новообразования в России в 2011 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена», 2013. 289 с.
4. Модестов А.А., Попов Д.В., Денисов В.С. и др. Концепция модернизации онкологической службы Красноярского края // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 2 (50). С. 57–60.
5. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Красноярском крае в 2010 году: Государственный доклад. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Красноярскому краю, 2011. 191 с.
6. Петрова Г.В., Грецова О.В., Старинский В.В. и др. Характеристика и методы расчета статистических показателей, применяемых в онкологии. М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Росздрава, 2005. 39 с.
7. Писарева Л.Ф., Одинова И.Н., Чердынцева Н.В. и др. Эпидемиология злокачественных новообразований молочной железы в Норильске // Здоровоохранение Российской Федерации. 2010. № 5. С. 11–15.

Поступила 16.05.13

К ПРОБЛЕМЕ РАДИАЦИОННОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА И ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

О.И. Щербенко, Р.А. Пархоменко

*Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава РФ,
лаборатория детской рентгенорадиологии
117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86, e-mail: Sherbenko@mail.ru*

Проведен анализ 26 случаев вторых злокачественных опухолей у детей и подростков, получавших комплексное лечение по поводу лимфомы Ходжкина и острого лимфобластного лейкоза. Во всех случаях опухоли развились в зоне бывшего радиационного воздействия или по краю ее. Интервал между первичным лечением и развитием второй опухоли составил от 3 до 29 лет, дозы лучевой терапии – от 12 до 45 Гр. Только у 5 больных лечение второй опухоли было успешным, остальные умерли от ее прогрессирования. Риск развития второй опухоли должен учитываться при планировании комплексного лечения больных гемобластозами и в случаях благоприятного прогноза (достижение полной ремиссии в результате индукционной химиотерапии, наличие других признаков благоприятного прогноза) целесообразно воздерживаться от проведения лучевой терапии как наиболее канцерогенного фактора в лечебном комплексе.

Ключевые слова: лучевая терапия, лимфома Ходжкина, острый лимфобластный лейкоз, радиационный канцерогенез.

TO THE PROBLEM OF RADIATION-INDUCED CARCINOGENESIS AFTER TREATMENT OF HODGKIN'S LYMPHOMA AND ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

O.I. Scherbenko, R.A. Parkhomenko

*Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow
86, Profsoyuznaya Street, 117997-Moscow, Russia, e-mail: Sherbenko@mail.ru*

Twenty-six cases with secondary malignant tumors in children and adolescents receiving treatment for Hodgkin's lymphoma and acute lymphoblastic leukemia were analyzed. In all cases the lesion had developed in an area of previous radiation treatment. The interval between the primary treatment and secondary cancer development was from 3 to 29 years. The radiation therapy dose was from 12 to 45 Gy. Treatment of secondary cancer was successful only in 5 patients, the remaining patients died of disease progression. The risk of developing secondary cancer should be considered when planning treatment for patients with hemoblastosis. In cases with favorable prognosis (complete remission after induction chemotherapy and other signs of favorable prognosis) it is advisable to withhold radiation therapy as the most important risk factor for cancer.

Key words: radiation therapy, Hodgkin's lymphoma, acute lymphoblastic leukemia, radiation-induced carcinogenesis.

Лучевая терапия продолжает играть важную роль в комплексе лечебных средств, применяемых у детей и подростков, больных злокачественными опухолями. При многих новообразованиях результаты разработанных протоколов продемонстрировали улучшение ближайших и отдаленных результатов лечения при включении лучевой терапии. Выполнение этих рекомендаций является необходимым для лечащего врача с юридической точки зрения. Однако накопленный за последние десятилетия опыт показал другую сторону применения лучевой терапии: повышение местной

безрецидивной выживаемости может быть получено ценой развития отдаленных осложнений, ухудшающих качество жизни и даже представляющих непосредственную угрозу для нее [1, 3–9, 11–14, 18–20].

Располагая опытом использования лучевой терапии (ЛТ) у более чем 3000 детей и подростков, мы можем констатировать, что наряду с такими непосредственно не угрожающими жизни, но ухудшающими ее качество осложнениями, как нарушение роста костей скелета и атрофия мягких тканей, нарушение структуры и функции

щитовидной железы, снижение интеллектуальных возможностей за счет пострадиационной энцефалопатии после облучения головного мозга, развития радиационной катаракты и хронических воспалительных изменений в органах мочевого выделения и пищеварения, пневмосклерозов и кардиопатий, мы наблюдаем в отдаленные сроки и более грозные осложнения – прежде всего, это индуцированные злокачественные опухоли. Чаще всего такие осложнения встречаются у больных, получавших лечение по поводу гемобластозов – лимфомы Ходжкина (ЛХ) и острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ). Это можно объяснить как их преобладанием в общей структуре онкологических заболеваний у детей и подростков, так и достижением в последние десятилетия существенного прогресса в лечении данных форм опухолей. Стойкие ремиссии после использования современных программ терапии ЛХ и ОЛЛ достигаются в 70–90 %, большая продолжительность жизни излеченных детей и подростков способствует реализации канцерогенного эффекта ионизирующей радиации.

Целью исследования явился анализ наблюдавшихся случаев развития индуцированных опухолей у больных, леченных по поводу ЛХ и ОЛЛ.

Материал и методы

За последние 20 лет наблюдали 26 больных, у которых после химиолучевого лечения в детском или подростковом возрасте в зоне облучения разви-

лись вторые опухоли (таблица). Из них 19 пациентов получали лечение по поводу ЛХ, 7 больных – по поводу ОЛЛ. Всем больным на первом этапе проводилась индукционная полихимиотерапия. При ЛХ использовались как монотонные схемы химиотерапии, включавшие циклофосфан, винкалакалоиды, натулан и преднизолон, так и альтернирующие схемы, предложенные немецкими исследователями (DAL-HD 90-95-98), включавшие антрациклиновые антибиотики (адриамицин или доксорубин), винкристин, этопозид, преднизолон. Количество схем химиотерапии при ЛХ определялось стадией и гистологической формой опухоли. Дозы лучевой терапии на лимфатические коллекторы у больных ЛХ, получавших индукционное лечение монотонными схемами, составляли 35–45 Гр, при использовании программ DAL – 25–35 Гр. Больные ОЛЛ получали индукционную химиотерапию по различным модификациям программы ВФМ, облучение головного мозга проводилось для профилактики нейролейкоза в суммарных дозах 12–18 Гр.

Результаты и обсуждение

У всех больных к началу лучевой терапии после индукционной химиотерапии констатировалось достижение полной или практически полной ремиссии основного заболевания. У больных ЛХ сроки выявления второй опухоли колебались от 3 до 29 лет, у больных ОЛЛ – от 3 до 8 лет (таблица). Широкий был и диапазон использованных доз об-

Таблица

Вторые опухоли после лечения лимфомы Ходжкина и острого лимфобластного лейкоза

Первая опухоль	Гистологическая структура второй опухоли	Число больных	Интервал между ЛТ и второй опухолью, лет	Диапазон суммарных доз ЛТ в зоне второй опухоли, Гр
Лимфома Ходжкина	Папиллярный рак щитовидной железы	4	От 5 до 15	От 30 до 44
	Саркома мягких тканей	3	5–6	От 25 до 40
	Острый лейкоз	3	3–11	Все группы лимфоузлов, СОД 35–45 Гр
	Рак желудка	2	12 и 14	36–40
	Рак молочной железы	2	25 и 29	40
	Базалиома кожи	2	20 и 22	36 и 45
	Мезотелиома плевры	1	20	44
	Гипернефрома	1	16	43
Острый лимфобластный лейкоз	Менингиома спинного мозга	1	17	36
	Глиобластома	6	3–8	12–18
	Медуллобластома	1	4	12
	Всего	26	3–29	12–45

лучения – от 12 – 18 Гр после облучения головного мозга у больных ОЛЛ до 35–45 Гр после облучения лимфатических коллекторов у больных ЛХ.

Наблюдавшиеся 19 случаев второй опухоли у больных ЛХ выявлены в когорте из 297 больных с данной патологией, находившихся под наблюдением детского отделения РНЦПР более 3 лет, что составило 6,4 % по отношению ко всей группе. К сожалению, мы не можем судить о частоте развития опухолей мозга у больных ОЛЛ, поскольку традиционно больные ОЛЛ наблюдаются у гематологов и проследить судьбу всех облучавшихся в этой группе не представилось возможным.

Заключение об этиологической связи между предшествовавшим облучением и развитием второй опухоли делалось на основании того, что все опухоли выявлены непосредственно в зонах радиационного воздействия или рядом с ними. Конечно, нельзя исключить и наличие определенной генетической предрасположенности к развитию второй опухоли, и вклад в ее патогенез проводившейся химиотерапии, однако данные литературы [9] свидетельствуют о наличии значимых различий в частоте возникновения вторых опухолей у больных, получавших и не получавших ЛТ.

Исходы второй опухоли зависели от ее локализации и гистотипа. Если больные раком щитовидной железы были введены в состояние стойкой ремиссии при помощи операции и последующей терапии радиоактивным йодом, больные базалиомой излечены хирургическим методом, то пациенты с индуцированным лейкозом, опухолями мозга, раком желудка и молочной железы умерли в сроки от 1 года до 5 лет от прогрессирования индуцированной опухоли. Также умерли все больные с индуцированными опухолями головного мозга. Срок их жизни не превысил двух лет с момента выявления второй опухоли.

Представленные случаи демонстрируют способность лучевой терапии индуцировать развитие новой злокачественной опухоли. Можно предположить, что вероятность развития второй и последующих опухолей будет возрастать по мере увеличения продолжительности жизни больных. Это наглядно показано в работе [12], авторы которой определили кумулятивный риск заболеть второй опухолью через 30 лет после лечения рака в детском возрасте в 20,5 % и третьей опухолью – в 7,9 %.

Поскольку практически у всех наблюдавшихся больных в результате индукционной химиотерапии первичной опухоли была достигнута клиническая ремиссия, представляется правомочным ставить вопрос об обоснованности использования у них консолидирующей лучевой терапии. Современные программы лечения ЛХ предусматривают использование консолидирующей ЛТ у всех больных, а при ОЛЛ – в группах среднего и высокого риска. В то же время последние данные о наличии в опухолях радио- и химиорезистентных стволовых клеток, являющихся источником рецидивов [2, 10, 15, 16], заставляют усомниться в целесообразности выполнения полного объема «протокольного» лечения у всех больных без учета первичного ответа опухоли на индукционное лечение. Представляется, что в ряде случаев, при наличии благоприятных прогностических признаков и достижении в результате индукционной химиотерапии полной регрессии всех проявлений опухоли, подтвержденной современными методами исследования (МРТ, ПЭТ, МСКТ), оправдано исключение из лечебного протокола радиационного компонента, как потенциально опасного в плане канцерогенеза. Тем более, что «спасающая» терапия при рецидивах ЛХ и ОЛЛ доказала свою эффективность [17].

Заключение

Риск радиационного канцерогенеза в отдаленные сроки является реальным для больных, излеченных от ЛХ и ОЛЛ, что должно учитываться при планировании радиотерапевтического этапа. Развитие второй опухоли наблюдалось после использования широкого диапазона доз (от 12 до 45 Гр) и сроков после лечения (от 3 до 29 лет). С учетом риска канцерогенеза определение показаний к проведению консолидирующей лучевой терапии при ЛХ и ОЛЛ должно базироваться не только на рекомендациях утвержденных протоколов, но и на учете всех факторов, в том числе и ответа на индукционную химиотерапию, результатов детальной оценки ее эффекта при помощи современных методик диагностики. Дети и подростки, получавшие лучевую терапию, подлежат пожизненному наблюдению с особым вниманием к облучавшимся зонам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agha A., Sherlock M., Brennan S. *et al.* Hypothalamic-Pituitary Dysfunction after irradiation of nonpituitary brain tumors in adults // *J. Clin. Endocrinol. Metabolism.* 2005. Vol. 90 (12). P. 6355.

2. Alison M.R., Lin W.R., Lim S.M. et al. Cancer stem cells: in the line of fire // *Cancer Treat. Rev.* 2012. Vol. 38 (6). P. 589–598.
3. Asai A., Kawamoto K. Radiation-induced brain injury // *Brain Nerve.* 2008. Vol. 6 (2). P. 123–129.
4. Armstrong G.T., Robison L.L., Liu W. et al. Occurrence of Multiple Subsequent Neoplasms in Long-Term Survivors of Childhood Cancer: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study // *Eur. J. Cancer.* 2003. Vol. 39 (16). P. 2379–2386.
5. Armstrong G.T., Stovall M., Robison L.L. Long-term effects of radiation exposure among adult survivors of childhood cancer: results from the childhood cancer survivor study // *Radiat. Res.* 2010. Vol. 174 (6). P. 840–850.
6. Armstrong G.T., Yasui Y., Huang S. et al. Long-term outcomes among survivors of childhood central nervous system malignancies in the childhood cancer survivor study // *J. Natl. Cancer Inst.* 2009. Vol. 101 (13). P. 946–958.
7. Anderson N.E. Late complications in childhood central nervous system tumor survivors // *Curr. Opin. Neurol.* 2003. Vol. 16 (6). P. 677–683.
8. Asai A., Matsutani M., Matsuda T. et al. Radiation-induced brain atrophy // *Gan No Rinsho.* 1989. Vol. 35 (11). P. 1325–1329.
9. Barbaro P.M., Johnston K., Dalla-Pozza L. et al. Reduced incidence of second solid tumors in survivors of childhood Hodgkin's lymphoma treated without radiation therapy // *Ann. Oncol.* 2011. Vol. 22 (12). P. 2569–2574.
10. Brunner T.B., Kunz-Schughart L.A., Grosse-Gehling P. et al. Cancer stem cells as a predictive factor in radiotherapy // *Semin. Radiat. Oncol.* 2012. Vol. 22 (2). P. 151–174.
11. Castellino S.M., Geiger A.M., Mertens A.C. et al. Morbidity and mortality in long-term survivors of Hodgkin lymphoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study // *Blood.* 2011. Vol. 117 (6). P. 1806–1816.
12. Friedman D.L., Whitton J., Leisenring W. et al. Subsequent neoplasms in 5-year survivors of childhood cancer: the Childhood Cancer Survivor Study // *J. Natl. Cancer Inst.* 2010. Vol. 102 (14). P. 1083–1095.
13. Henderson T.O., Oeffinger K.C., Whitton J. et al. Secondary gastrointestinal cancer in childhood cancer survivors: a cohort study // *Ann. Intern. Med.* 2012. Vol. 156 (11). P. 757–766.
14. Galloway T.J., Indelicato D.J., Amdur R.J. et al. Second tumors in pediatric patients treated with radiotherapy to the central nervous system // *Am. J. Clin. Oncol.* 2012. Vol. 35 (3). P. 279–283.
15. Grotenhuis B.A., Wijnhoven B.P., van Lanschot J.J. Cancer stem cells and their potential implications for the treatment of solid tumors // *J. Surg. Oncol.* 2012. Vol. 106 (2). P. 209–215.
16. Koch U., Krause M., Baumann M. Cancer stem cells at the crossroads of current cancer therapy failures—radiation oncology perspective // *Semin. Cancer Biol.* 2010. Vol. 20 (2). P. 116–124.
17. Metzger M.L., Weinstein H.J., Hudson M.M. et al. Association between radiotherapy vs no radiotherapy based on early response to VAMP chemotherapy and survival among children with favorable-risk Hodgkin lymphoma // *JAMA.* 2012. Vol. 307 (24). P. 2609–2616.
18. O'Brien M.M., Donaldson S.S., Balise R.R. et al. Second malignant neoplasms in survivors of pediatric Hodgkin's lymphoma treated with low-dose radiation and chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28 (7). P. 1232–1239.
19. Sun W.F., Cheng F.W., Lee V. et al. Second malignant neoplasms in childhood cancer survivors in a tertiary pediatric oncology centre in Hong Kong, China // *Chin. Med. J. (Engl.)* 2011. Vol. 124 (22). P. 3686–3692.
20. Travis L.B., Ng A.K., Allan J.M. et al. Second malignant neoplasms and cardiovascular disease following radiotherapy // *J. Natl. Cancer Inst.* 2012. Vol. 104 (5). P. 357–370.

Поступила 27.02.13

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НА УРАЛЕ ДВУХЭТАПНОЙ МЕТОДИКИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ (SPLIT IN SITU) ПРИ ОБШИРНОМ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

Д.В. Чайченко¹, А.В. Важенин², А.В. Привалов², Е.А. Надвикова¹

ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер»¹,
ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия»²
454087, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42, e-mail: denis76doc@yandex.ru¹

Представлен первый опыт использования на Урале методики двухэтапной резекции печени split in situ при лечении пациентов с обширным ее поражением. Данная методика позволяет проводить хирургическую процедуру при обширном опухолевом распространении, снижая риск развития послеоперационной печеночной недостаточности, которая является одним из основных лимитирующих факторов при выборе объема резекции печени.

Ключевые слова: резекция печени, послеоперационная печеночная недостаточность, лигирование воротной вены, объем поврежденной паренхимы печени, рассечение на месте.

FIRST EXPERIENCE OF USING TWO-STAGE RESECTION OF THE LIVER (SPLIT IN SITU) IN PATIENTS WITH EXTENSIVE METASTASIS IN THE URAL REGION

D.V. Chaichenko¹, A.V. Vazhenin², A.V. Privalov², E.A. Nadvikova¹

*Chelyabinsk Regional Clinical Cancer Center¹,
Chelyabinsk State Medical Academy, Chelyabinsk²
42. Blyukhera Street, 454087-Chelyabinsk, Russia,
e-mail: denis76doc@yandex.ru¹*

The first experience of using the technique of two-stage resection of the liver (split in situ) in patients with extensive metastasis has been presented. This technique allows the surgeon to perform operation in cases with extensive metastasis reducing the incidence of postoperative hepatic failure, which is one of the main limited factors when choosing the extent of the liver resection.

Key words: resection of the liver, postoperative hepatic failure, ligation of the portal vein, split in situ.

Колоректальный рак (КР) – одна из наиболее распространенных злокачественных опухолей. Ежегодно в мире регистрируется более 500 тыс. случаев колоректального рака. От 20 до 50 % больных КР при первичном обращении имеют метастазы в печень. Среди больных, подвергшихся потенциально радикальному лечению и не имеющих впоследствии местных рецидивов, почти у 55 % выявляются метастазы в печень [4]. Хирургическое лечение метастатических поражений печени позволяет добиться значительного увеличения продолжительности жизни больных с КР, повышая пятилетнюю выживаемость до 30–40 % [2–4]. У пациентов с множественными метастазами КР в печень, не подвергшихся специализированному лечению, по данным многих исследований, выживаемость составляет менее 1 года. Несмотря на серьезный прорыв в развитии хирургических технологий, доля пациентов с опухолями печени,

которым в связи с распространенностью процесса и/или низкими функциональными показателями оперируемого органа невозможно провести оперативное вмешательство, остается весьма значительной [1]. В настоящее время ведутся активный поиск и внедрение различных методик, позволяющих повысить число больных, которым возможно провести потенциально радикальное лечение [5, 6, 8].

Двухэтапная методика резекции печени split in situ, соединяющая в себе одновременное разделение паренхимы печени и перевязку правой ветви воротной вены на первом этапе, и удаление ранее мобилизованной части печени на втором этапе, описана группой аргентинских хирургов, как выгодная стратегия, которая приводит к быстрому и заметному увеличению остающегося «ремнанта», с предварительными многообещающими результатами [7, 9–11]. После утверждения методики

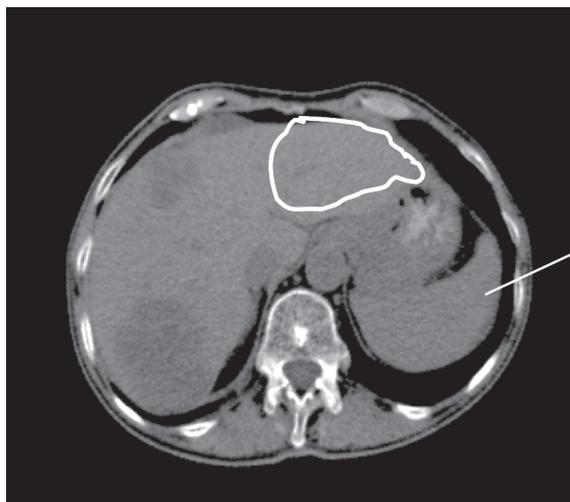


Рис. 1. КТ печени до операции: объем ремнанта 216 см³

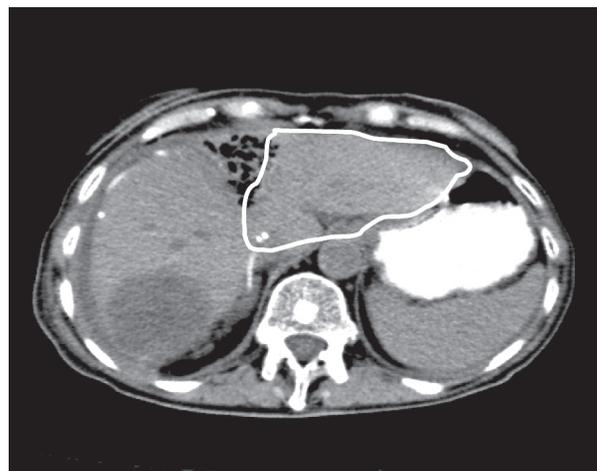


Рис. 2. КТ печени на 6-е сут после I этапа оперативного вмешательства: увеличение объема ремнанта на 105 %

на локальном этическом комитете Челябинского областного клинического онкологического диспансера (ЧОКОД) мы используем ее при хирургическом лечении больных с опухолевым поражением печени и печеночных протоков, одновременно продолжая изучение результатов и наблюдение за пролеченными больными. На сегодняшний день нам известно всего о трех случаях применения данной методики в РФ (операции выполнены 3 пациентам с гепатоцеллюлярным раком в условиях ФГБУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАМН) и около 20 случаев в мировой практике. Поэтому мы считаем актуальным представить наш первый опыт применения данной методики у пациента с обширным метастатическим поражением печени.

Пациентка С., 75 лет, № 12541/12 госпитализирована в отделение абдоминальной онкологии с диагнозом: Рак поперечной ободочной кишки IV стадия ($T_3N_0M_0$), метастазы в печени, билобарное поражение (VI, VII, IVa, IVb сегменты), в процессе комплексного лечения с июля 2012 г.

Из анамнеза: В июле 2012 г. больной в условиях ЧОКОД была выполнена паллиативная резекция поперечной ободочной кишки. Гистологическое заключение (№№ 20735–54): умереннодифференцированная аденокарцинома ободочной кишки. В 14 исследованных лимфатических узлах метастазов нет. По линии резекции опухолевого роста нет. В последующем проведено 3 цикла химиотерапии по схеме CapeOx и 2 цикла FOLFOX6 + бевацизумаб. При контрольных исследованиях на КТ брюшной

полости имеется обширное метастатическое поражение печени с переходом на левую долю.

Учитывая массивное поражение печени, малый объем остающейся неповрежденной паренхимы печени (около 17%), возраст больной, проведенные пять курсов химиотерапии, принято решение провести хирургическое лечение в объеме расширенной правосторонней гепатэктомии «split in situ». Мы рассчитывали, что использование данной методики позволит расширить показания для проведения резекций печени пациентам, у которых ранее это было невозможно, а также значительно снизит риск развития послеоперационной печеночной недостаточности.

Основные этапы операции. *Во время первого этапа проведена лимфаденэктомия гепатодуоденальной связки с выделением сосудистых структур, лигирование правой ветви воротной вены и произведена диссекция паренхимы печени по заранее намеченной линии резекции. Первый этап завершен контролем холе- и гемостаза, дренированием брюшной полости и укладкой пораженной доли печени в пластиковый пакет с наложенными турникетами на сосудах и воротных структурах.*

В период между I и II этапами состояние больной оставалось удовлетворительным, признаков печеночной недостаточности не наблюдалось, все функциональные пробы печени были в пределах нормы. На 6-е сут после первого этапа мы выполнили КТ исследование, которое продемонстрировало

увеличение ремнанта с 216 мл до 443 мл, его объем увеличился на 105 % (рис. 1, 2). Кроме этого, во время КТ мы повторно убедились в отсутствии метастазов в ремнанте.

Во время II этапа, выполненного на 7-е сут, произведена непосредственно резекция пораженной паренхимы печени. Послеоперационный период протекал гладко. Пациентка выписана из отделения на 12-е сут после снятия швов.

Таким образом, получен обнадеживающий опыт, позволяющий в дальнейшем выполнять радикальное лечение достаточно большой группе пациентов, которым ранее хирургическое вмешательство выполнить было принципиально невозможно. Положительный клинический опыт применения методики ALPPS (Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staget Hepatectomy) позволяет судить о ее перспективности при лечении пациентов с обширным метастатическим поражением печени, что требует дальнейшего продолжения исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев С.Г., Тузиков С.А. Нерезектабельные опухоли печени (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 1 (17). С. 49–54.
2. Котив Б.Н., Дзидзава И.И., Алентьев С.А. и др. Обширные резекции в лечении злокачественных новообразований печени // Современные технологии в медицине. 2010. № 1. С. 34–35.
3. Котив Б.Н., Дзидзава И.И., Алентьев С.А. и др. Комбинированное лечение метастазов колоректального рака в печень // Науч. вестн. Ужгород. ун-та. Медицина. 2011. № 2 (41). С. 126–132.
4. Патютко Ю.И. Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени. М.: Практическая медицина, 2005.
5. Agrawal S., Belghiti J. Oncologic resection for malignant tumors of the liver // Ann. Surg. 2011. Vol. 253. P. 656–665.
6. Adam R., Laurent A., Azoulay D. et al. Two-stage hepatectomy: a planned strategy to treat irresectable liver tumors // Ann. Surg. 2000. Vol. 232. P. 777–785.
7. Alvarez F.A., Iniesta J., Lastiri J. et al. New method of hepatic regeneration // Cir. Esp. 2011. Vol. 89. P. 645–649.
8. Baumgart J., Lang S., Lang H. A new method for induction of liver hypertrophy prior to right trisectionectomy: a report of three cases // HPB (Oxford). 2011. Vol. 13. Suppl. 2. P. 71–72.
9. de Santibañes E., Clavien P.A. Playing Play-Doh to Prevent Postoperative Liver Failure. The “ALPPS” approach // Ann. Surg. 2012. Vol. 255. P. 415–417.
10. de Santibañes E., Alvarez F.A., Ardiles V. How to avoid postoperative liver failure: a novel method // World J. Surg. 2012. Vol. 36. P. 125–128.
11. Schnitzbauer A.A., Lang S.A., Goessmann H. et al. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling two-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings // Ann. Surg. 2012. Vol. 255. P. 405–414.

Поступила 28.03.13

ОБЗОРЫ

УДК: 616.831-006.484:547.466.34

ТОРМОЗНЫЕ НЕЙРОМЕДИАТОРЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОПУХОЛЕВЫЙ ПРОЦЕСС ПРИ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.В. Карташев¹, В.Б. Войтенков²

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург¹

ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций»

ФМБА России, г. Санкт-Петербург²

197758, Санкт-Петербург, п/о Песочный, ул. Ленинградская, 70,

e-mail: arxiator@mail.ru

В обзоре рассматривается вопрос активности центрального тормозного медиатора – гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) при глиомах. Показано, что ГАМК в большинстве моделей обладает противоопухолевым действием, содержание ГАМК в опухолевой ткани и биологических жидкостях (кровь, ликвор) у пациентов с опухолями повышено. Выдвигается предположение, что одним из основных механизмов противоопухолевого действия ГАМК является ее взаимодействие с системой воспалительных цитокинов. Данный вопрос нуждается в дальнейшем подробном изучении.

Ключевые слова: гамма-аминомасляная кислота, глиомы, цитокины.

INHIBITORY NEUROTRANSMITTERS AND THEIR INFLUENCE ON TUMOR IN PATIENTS WITH GLIOMAS

A.V. Kartashev¹, V.B. Voitenkov²

Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, St-Petersburg¹

Research Institute of children's infections, St-Petersburg²

68, Leningradskaya Street, 197758-St.-Petersburg, Russia,

e-mail: arxiator@mail.ru

The review deals with the problem of activity of gamma-aminobutyric acid (GABA), the major inhibitory neurotransmitter, in gliomas. It has been shown that GABA has an antitumor activity in most models and cancer patients have an increased level of GABA in tumor tissue and biological fluids (blood, liquor). There is a hypothesis that the relationship between GABA and the inflammatory cytokine system is one of the mechanisms of antitumor activity of GABA.

Key words: gamma-aminobutyric acid, gliomas, cytokines.

Глиомы – самый частый тип первичной опухоли мозга, с общей заболеваемостью 4–5 случаев на 100000 человек в год [2, 35]. Средняя продолжительность жизни пациента с глиомой составляет около 12 мес, применяемые схемы терапии отличаются агрессивностью и относительно невысокой эффективностью [5, 8]. Вопрос о совершенствовании терапии глиомы является актуальным для современной медицины. Течение ряда патологических процессов, в частности опухолевого, сильно зависит от психоэмоционального состояния до начала и во время заболевания [21]. Состояние стресса, как острого, так и хронического, достоверно влияет на все звенья опухолевого процесса, способствуя

инициированию, прогрессированию и метастазированию рака, в том числе и злокачественных опухолей ЦНС [31]. В модулировании центральных реакций на болезнь определяющую роль играют нейропептиды, нейрогормоны и нейроэндокринная система в целом. Нейротрансмиттеры (тормозные и возбуждающие) находятся в состоянии постоянного взаимодействия и динамического изменения в зависимости от условий среды, генетических и эпигенетических факторов [4]. Возбуждающие нейромедиаторы, например норэпинефрин, оказывают активирующее действие на опухолевый процесс. Тормозные нейромедиаторы, в первую очередь гамма-аминомасляная кислота (ГАМК),

известны своим противоопухолевым действием в большинстве моделей злокачественных новообразований [43].

Взгляд на ГАМК как на нейротрансмиттер, вырабатывающийся только в ЦНС и только нейронами, давно потерял свою актуальность. Известно, что ГАМК обнаруживается в клетках поджелудочной железы, печени, легких. В глиальных клетках имеются не только рецепторы к ГАМК, но и места ее синтеза [13]. ГАМК в глиальных клетках присутствует в различных отделах развивающегося и взрослого мозга. Показано, что медиатор выявляется в глии уже с третьей недели постнатального периода [34]. В культурах клеток ГАМК экспрессируют астроциты 2-го типа и дифференцировавшиеся олигодендроциты [15]. ГАМК-иммунореактивность обнаружена в глиальных клетках мозжечка и ствола мозга крыс и человека [16, 17, 29].

Глиальные клетки могут синтезировать ГАМК из глутамата через цикл трикарбоновых кислот [50], хотя их способность к этому синтезу существенно ниже, чем у нейронов. Глиоматозные клетки также могут синтезировать тормозный нейротрансмиттер [42]. Вторым путем синтеза ГАМК в глии является преобразование путресцина с помощью моноаминоксидазы [26]. Ранее считалось, что выработанная глиальными клетками ГАМК не секретируется, а далее преобразуется в глутамин. Однако имеются убедительные свидетельства того, что медиатор секретируется астроцитами, и эта секреция модулируется другими нейротрансмиттерами и прочими веществами, например никотиновой кислотой [20, 48]. ГАМК, выработанная нейронами, одной из ближайших мишеней имеет глиальные клетки; показано наличие у астроцитов ГАМК_A- и ГАМК_B-рецепторов [19, 22]. В постнатальной субвентрикулярной зоне бокового желудочка мозга, где у взрослых происходит нейрогенез, в пролиферативный контроль нейробластов вовлечена система ГАМК (система синтеза, выделения, рецепторы) [47]. Существует мнение, что исчезновение ГАМК_A-рецепторов связано с повышением злокачественности и неограниченным ростом глиом [27]. Также имеются сведения о том, что наличие определенных субъединиц ГАМК_A-рецепторов в клетках глиом (субъединица $\alpha 2$ в астроцитах) является прогностическим фактором и достоверно связано со средней продолжительностью жизни

пациентов [45]. Сообщается, что выявляемые точки связывания ГАМК находят только на клетках глиом с ограниченной злокачественностью (глиомы II степени по классификации ВОЗ), в то время как у глиобластом рецепторы ГАМК выявить не удается [25]. Еще в 1960-е годы отечественные исследователи показали, что содержание ГАМК и активность глутаматдекарбоксилазы в доброкачественных менингиомах весьма высоки, в то время как в злокачественных астроцитомах и тот, и другой показатель крайне низки [10].

Важно отметить, что распределение ГАМК-рецепторов сильно отличается у различных линий клеток, например, клетки нейробластомы линии IMR-32 содержат функционирующий ГАМК_A-рецептор, не чувствительный к бензодиазепинам [12]. У клеток линии С6 при наличии функционирующего ГАМК_A-рецептора описывается активное взаимодействие с бензодиазепиновыми рецепторами [28]. При оценке представленности субъединиц ГАМК_A-рецепторов на линиях B35, B65, B103, B104, RINm5F, Rat1, PC12, C6, C17, C27, betaTC3, NB41A3 и AtT-20 показано, что в каждой из них выявлялась как минимум одна субъединица. В каждой линии имелась своя комбинация единиц, т.е. свойства линий клеток с точки зрения их отношения к системе ГАМК были различными [46]. В этой связи большое значение приобретают работы, выполняемые *in vivo* и в клинических условиях.

Известно, что в клинических условиях при онкологических заболеваниях повышается содержание ГАМК в опухолевой ткани [24], например при раке желудка [30]; выделение тормозного медиатора с мочой при раке яичников также достоверно возрастает [33]. Описано увеличение содержания ГАМК в ликворе при глиомах [41]. Большое внимание этому вопросу уделялось отечественными исследователями: еще в 1960-е годы было показано значительное повышение содержания ГАМК в ликворе у пациентов с астроцитомами [7]. Интересен тот факт, что лучевая терапия глиом повышает в опухолевой ткани содержание ГАМК [10]. Можно предполагать, что повышение уровня ГАМК в опухолевой ткани связано с ее активным участием в противоопухолевом ответе организма. Применение ГАМК-ергических препаратов при экспериментальных глиомах показало наличие у них противоопухолевого эффекта. В частности, бензодиазепины подавляли способность клеток

глиомы человека к пролиферации [37]. Диазепам стимулировал апоптоз в клетках глиом линий U-87 MG, U373 MG и первичных глиобластом человека [40]. Фенобарбитал значительно снижал частоту индуцированных глиом у крыс линии WF, хотя этот эффект наблюдался только у самок, у самцов снижение частоты развития опухолей не достигло степени достоверности [32]. На глиомах линии NG108-15 применение фенобарбитала, фенитоина, карбамазепина и вальпроевой кислоты дало различные результаты: карбамазепин и фенобарбитал противоопухолевого эффекта не оказали, в то время как вальпроевая кислота и фенитоин достоверно снижали опухолевый рост [44].

С другой стороны, применение бензодиазепинов у крыс *in vivo* в продолжительном исследовании противоопухолевого эффекта не оказывало: количество и размеры глиом между группами не различались [18]. Имеются сведения, что при применении в малых концентрациях бензодиазепины являются стимуляторами роста, использование же высоких концентраций оказывает противоопухолевый эффект [23]. Следует учитывать, что антиконвульсанты разных групп, хотя и взаимодействуют с системой ГАМК, но каждый обладает дополнительными эффектами; ни один из вышеперечисленных препаратов не является исключительно ГАМК-ергическим средством.

Вопрос о механизмах противоопухолевого действия ГАМК при глиомах является чрезвычайно сложным. Возможно, определенную роль здесь играют иммунологические факторы; в этой связи интерес представляет вопрос о взаимодействии системы ГАМК и цитокинов.

Цитокины влияют на взаимодействие макроорганизма и растущей опухоли; они принимают участие в активации так называемого противоопухолевого иммунитета, с другой стороны, синтезируются опухолевыми клетками и могут оказывать активирующее влияние на опухолевый рост и метастазирование [6]. IL-6, IL-1 и TNF относятся к главным провоспалительным цитокинам; они играют важную роль в инициации роста опухолей. Важное значение имеет их влияние на инвазивность опухолей; известно, что интерлейкин-6 обладает повышающим инвазивность глиомы действием [51]. TNF является ангиогенным цитокином, способен в том числе стимулировать кровоснабжение опухоли и пролиферацию ее клеток [14]. Известно,

что на клетках астроцитомы линии С6 ГАМК подавляла образование цитокина интерлейкина-6; интересным и пока малоизученным вопросом остается, какая конкретно группа рецепторов ответственна за это действие [39]. Таким образом, можно предполагать, что как минимум часть своей противоопухолевой активности ГАМК реализует за счет влияния на провоспалительные цитокины. Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Применение ГАМК-ергических препаратов в терапии глиом, несмотря на малое количество таких работ, показало перспективность этого направления. Так, применение препарата вальпроевой кислоты, которая повышает содержание ГАМК в ЦНС и изменяет чувствительность к ней, у пациентов с глиобластомами удлиняло сроки выживаемости [49]. Однако имеются сведения о том, что антиконвульсанты (индукторы микросомальных систем печени) ухудшают выживаемость при остром миелобластном лейкозе, это объясняется улучшением выведения химиопрепаратов [38]. С другой стороны, их длительное применение у людей снижает риск развития рака мочевого пузыря [36]. Антиконвульсанты, как уже рассматривалось выше, обладают рядом других эффектов, кроме ГАМК-ергического, применение же в клинической практике препаратов ГАМК (гаммалон, аминалон и т. д.) ограничено из-за формы приема (пероральной) вследствие больших потерь по пути активного вещества в ЦНС. Известно, что применение ГАМК-ергического препарата пептида дельта-сна, отличающегося интраназальным путем введения, у детей, получающих высокодозную химиотерапию при злокачественных соматических опухолях, ускоряло регенерацию костного мозга и оказывало нейропротекторное действие, выразившееся, в частности, в нормализации электроэнцефалографических показателей [1]. Несмотря на сведения о противоопухолевой активности аналогов лей-энкефалина и пептида дельта-сна в эксперименте [3, 9, 11] и большой интерес, который могут представлять подобные данные, клинических сообщений об эффективности ГАМК-ергических препаратов пептидной природы при опухолях ЦНС не найдено. На наш взгляд, более широкое клиническое применение специализированных ГАМК-ергических препаратов пептидного ряда с оптимальным путем доставки (например, интраназальным) является весьма перспективным при глиомах.

Заключение

Основной тормозный медиатор ЦНС (гамма-аминомасляная кислота) широко представлен в глиальной ткани. Здесь обнаружены рецепторы к ГАМК, а также собственная система ее синтеза и секреции. В опухолевых глиальных клетках также выявляются рецепторы, системы синтеза и секреции ГАМК. Композиция субъединиц ГАМК-рецепторов и общее содержание ГАМК зависят от степени злокачественности процесса. Применение ГАМК и ГАМК-ергических препаратов в экспериментальных и клинических условиях показало наличие противоопухолевой активности, в частности удлинение сроков выживаемости у пациентов с глиобластомами. Клиническое применение ГАМК при глиомах изучено мало и остается полем для дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 годы» в рамках государственного контракта № 14.512.11.0044.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белогурова М.Б. Влияние препарата дельтаран на показатели цитопении и состоянии центральной нервной системы у детей, получавших высокодозную химиотерапию // Российский биомедицинский журнал. 2001. Т. 2. С. 51–52.
2. Блиссеева А.В. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность). М., 2010. С. 17.
3. Войтенков В.Б., Попович И.Г., Забегинский М.А. и др. Влияние препарата пептида дельта-сна «дельтаран» на продолжительность жизни, физиологические показатели и канцерогенез у мышей // Успехи геронтологии. 2009. Т. 22, № 4. С. 646–654.
4. Девойно Л.В., Идова Г.В., Альперина Е.Л. и др. Системные мозговые механизмы нейроиммунотензии: психоэмоциональный вклад // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. 2004. № 2. С. 90–97.
5. Карташев А.В., Виноградов В.М., Олюшин В.Е. и др. Ускоренная послеоперационная химиолучевая терапия больных злокачественными глиомами головного мозга // Вопросы онкологии. 2008. Т. 54. С. 102–105.
6. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 550 с.
7. Кривошук М.Е. Аммиак, глутаминовая кислота, глутамин и γ -аминомасляная кислота в люмбальной и желудочковой жидкости больных с опухолями центральной нервной системы // Вопросы медицинской химии. 1965. Т. XI, вып. 5. С. 59–62.
8. Осинев И.К., Мусабеева Л.И., Нечитайло М.Н., Чойнзонов Е.Л. Химиолучевое лечение злокачественных глиом головного мозга с применением препарата Темодал // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 6 (36). С. 5–11.
9. Слепко Н.Г., Козлова М.В. Исследование влияния синтетического аналога лей-энкефалина даларгина на пролиферативную активность клеток глиомы С6 и интенсивность синтеза в них ДНК // Цитология. 1992. Т. 34, № 1. С. 66–73.
10. Сытинский И.А., Чайка Т.В., Бернштам В.А. γ -аминомасляная кислота и глутаматдекарбоксилаза в опухолях головного мозга человека // Вопросы медицинской химии. 1968. Т. XIV, вып. 4. С. 434–436.
11. Шмалько Ю.П., Михалева И.И. Антиметастатический эффект пептида дельта-сна при стрессе у мышей с карциномой легкого Льюиса // Экспериментальная онкология. 1988. Т. 10, № 2. С. 57–60.
12. Anderson S.M., De Souza R.J., Cross A.J. The human neuroblastoma cell line, IMR-32 possesses a GABA_A receptor lacking the benzodiazepine modulatory site // Neuropharmacology. 1993. Vol. 32 (5). P. 455–460.
13. Angulo M.C., Le Meur K., Kozlov A.S. et al. GABA, a forgotten gliotransmitter // Progress Neurobiol. 2008. Vol. 86. P. 297–303.
14. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? // Cytokine Growth Factor Rev. 2002. Vol. 13. P. 135–141.
15. Barres B.A., Koroshetz W.J., Swartz K.J. et al. Ion channel expression by white matter glia: the O-2A glial progenitor cell // Neuron. 1990. Vol. 4. P. 507–524.
16. Benagiano V., Virgintino D., Rizzi A. et al. Glutamic acid decarboxylase positive neuronal cell bodies and terminals in the human cerebellar cortex // J. Histochem. 2000. Vol. 32. P. 557–564.
17. Blomqvist A., Broman J. Light and electron microscopic immunohistochemical demonstration of GABA-immunoreactive astrocytes in the brain stem of the rat // J. Neurocytol. 1988. Vol. 17. P. 629–637.
18. Borelli G., Bertoli D., Chieco P. Carcinogenicity study of doxepazepam administered in the diet to Sprague-Dawley rats // Fundam Appl. Toxicol. 1990. Vol. 15 (1). P. 82–92.
19. Bureau M., Laschet J., Bureau-Heeren M. et al. Astroglial Cells Express Large Amounts of GABA_A Receptor Proteins in Mature Brain // J. Neurochem. 1995. Vol. 65 (5). P. 2006–2015.
20. Gallo V., Patrizio M., Levi G. GABA release triggered by the activation of neuron-like non-NMDA receptors in cultured type 2 astrocytes is carrier mediated // Glia. 1991. Vol. 4. P. 245–255.
21. Heffner K.L., Loving T.J., Robles T.F. et al. Examining psychosocial factors related to cancer incidence and progression: In search of the silver lining // Brain Behav. Immun. 2003. Vol. 17. P. 109–111.
22. Hösli E., Hösli L. Evidence for GABA receptors on cultured astrocytes of rat CNS: autoradiographic binding studies // Exp. Brain Res. 1990. Vol. 80. P. 621–625.
23. Ikezaki K., Black K.L. Stimulation of cell growth and DNA synthesis by peripheral benzodiazepine // Cancer Lett. 1990. Vol. 49 (2). P. 115–120.
24. Israël M. A possible primary cause of cancer: deficient cellular interactions in endocrine pancreas // Mol. Cancer. 2012. Vol. 11. P. 63–70.
25. Jussofie A., Reinhardt V., Kalf R. GABA binding sites: their density, their affinity to muscimol and their behaviour against neuroactive steroids in human gliomas of different degrees of malignancy // J. Neural. Transm. Gen. Sect. 1994. Vol. 96 (3). P. 233–241.
26. Kremzner L.T., Hiller J.M., Simon E.J. Metabolism of polyamines in mouse neuroblastoma cells in culture: formation of GABA and putrescine // J. Neurochem. 1975. Vol. 25 (6). P. 889–894.
27. Labrakakis C., Patt S., Hartmann J., Kettenmann H. Functional GABA(A) receptors on human glioma cells // Eur. J. Neurosci. 1998. Vol. 10. P. 231–238.
28. Majewska M.D., Chuang D.M. Benzodiazepines enhance the muscimol-dependent activation of phospholipase A2 in glioma C6 cells // Pharmacol. Exp. Ther. 1985. Vol. 232 (3). P. 650–655.
29. Martinez-Rodriguez R., Tonda A., Gragera R.R. et al. Synaptic and non-synaptic immunolocalization of GABA and glutamate acid decarboxylase (GAD) in cerebellar cortex of rat // Cell Mol. Biol. 1993. Vol. 39. P. 115–123.
30. Matuszek M., Jesipowicz M., Kleinrok Z. GABA content and GAD activity in gastric cancer // Med. Sci. Monit. 2001. Vol. 7 (3). P. 377–381.
31. Moreno-Smith M., Lutgendorf S.K., Sood A.K. Impact of stress on cancer metastasis // Future Oncol. 2010. Vol. 6 (12). P. 1863–1881.
32. Naito M., Aoyama H., Ito A. Inhibitory effect of phenobarbital on the development of gliomas in WF rats treated neonatally with N-ethyl-N-nitrosourea // J. Natl. Cancer Inst. 1985. Vol. 74 (3). P. 725–728.

33. *Nicholson-Guthrie C.S., Guthrie G.D., Sutton G.P., Baenziger J.C.* Urine GABA levels in ovarian cancer patients: elevated GABA in malignancy // *Cancer Lett.* 2001. Vol. 162 (1). P. 27–30.
34. *Ochi S., Lim J.Y., Rand M.N. et al.* Transient presence of GABA in astrocytes of the developing optic nerve // *Glia.* 1993. Vol. 9. P. 188–198.
35. *Ohgaki H., Kleihues P.* Epidemiology and etiology of gliomas // *Acta Neuropathol.* 2005. Vol. 109. P. 93–108.
36. *Olsen J.H., Boice J.D., Jensen J.P., Fraumeni J.F.* Cancer among epileptic patients exposed to anticonvulsant drugs // *J. Natl. Cancer Inst.* 1989. Vol. 81 (10). P. 803–808.
37. *Pawlikowski M., Kunert-Radek J., Radek A., Stepien H.* Inhibition of cell proliferation of human gliomas by benzodiazepines in vitro // *Acta Neurol. Scand.* 1988. Vol. 77 (3). P. 231–233.
38. *Relling M.V., Pui C.H., Sandlund J.T. et al.* Adverse effect of anticonvulsants on efficacy of chemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia // *Lancet.* 2000. Vol. 356. P. 285–290.
39. *Roach J.D., Aguinaldo G.T., Jonnalagadda K.* G-Aminobutyric Acid Inhibits Synergistic Interleukin-6 Releases but not Transcriptional Activation in Astrocytoma Cells // *Neuroimmunomodulation.* 2008. Vol. 15 (2). P. 117–124.
40. *Sarisky M., Lavicka J., Kocanova S. et al.* Diazepam enhances hypericin-induced photocytotoxicity and apoptosis in human glioblastoma cells // *Neoplasma.* 2005. Vol. 52 (4). P. 352–359.
41. *Schmidt D., Loscher W.* Plasma and cerebrospinal fluid γ -aminobutyric acid in neurological disorders // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1982. Vol. 45. P. 931–935.
42. *Schrier B.K., Thompson E.J.* On the role of glial cells in the mammalian nervous system. Uptake, excretion, and metabolism of putative neurotransmitters by cultured glial tumor cells // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. P. 1769–1780.
43. *Schuller H.M., Al-Wadei H.A., Ullah M.F., Plummer H.K.* Regulation of pancreatic cancer by neuropsychological stress responses: a novel target for intervention // *Carcinogenesis.* 2012. Vol. 33 (1). P. 191–196.
44. *Slesinger P.A., Singer H.S.* Effects of anticonvulsants on cell growth and enzymatic and receptor binding activity in a neuroblastoma x glioma hybrid cell culture // *Epilepsia.* 1987. Vol. 28 (3). P. 214–221.
45. *Smits A., Jin Z., Elsir T.* GABA-A Channel Subunit Expression in Human Glioma Correlates with Tumor Histology and Clinical Outcome // *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7 (5). P. 1–10.
46. *Tyndale R.F., Hales T.G., Olsen R.W., Tobin A.J.* Distinctive patterns of GABAA receptor subunit mRNAs in 13 cell lines // *J. Neurosci.* 1994. Vol. 14 (9). P. 5417–5428.
47. *Young S.Z., Bordey A.* GABA's control of stem and cancer cell proliferation in adult neuronal and peripheral niches // *Physiology (Bethesda).* 2009. Vol. 24. P. 171–185.
48. *Wang C.M., Chang Y.Y., Kuo J.S., Sun S.H.* Activation of P2X(7) receptors induced $[(3)H]$ GABA release from the RBA-2 type-2 astrocyte cell line through a $Cl(-)/HCO(3)(-)$ -dependent mechanism // *Glia.* 2002. Vol. 37 (1). P. 8–18.
49. *Weller M., Gorlia T., Cairncross J.G.* Prolonged survival with valproic acid use in the EORTC/NCIC temozolomide trial for glioblastoma // *Neurology.* 2011. Vol. 77 (12). P. 1156–1164.
50. *Wilson S.H., Schrier B.K., Farber J.L. et al.* Markers for gene expression in cultured cells from the nervous system // *J. Biol. Chem.* 1972. Vol. 247. P. 3159–3169.
51. *Zhang J., Sarkar S., Cua R., Zhou Y., Hader W., Yong V.W.* A dialog between glioma and microglia that promotes tumor invasiveness through the CCL2/CCR2/interleukin-6 axis // *Carcinogenesis.* 2012. Vol. 33 (2). P. 312–319.

Поступила 25.03.13

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

УДК: 616-006.363.03-073-076:617-089

СЛУЧАЙ ИЗОЛИРОВАННОГО РЕТРОПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЛИМФАНГИОМИОМАЗА

**С.В. Вторушин^{1,2}, В.М. Перельмутер^{1,2}, М.В. Завьялова^{1,2}, В.Р. Латыпов²,
О.Ю. Бородин², Д.В. Давыдов²**

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, Томск¹

*ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Томск²*

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: wtorushin@rambler.ru²

Представлены результаты хирургического лечения редкой патологии – ретроперитонеального лимфангиомиоматоза, а также данные лучевых и морфологических методов диагностики.

Ключевые слова: ретроперитонеальный лимфангиомиоматоз, диагностика.

ISOLATED RETROPERITONEAL LYMPHANGIOMYOMATOSIS

S.V. Vtorushin^{1,2}, V.M. Perelmuter^{1,2}, M.V. Zavyalova^{1,2}, V.R. Latypov², O.Yu. Borodin², D.V. Davydov²

Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk¹

Siberian State Medical University, Tomsk²

2, Moskovsky Tract Street, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: wtorushin@rambler.ru²

The results of surgical treatment of a rare disease – retroperitoneal lymphangiomyomatosis ray data and morphological studies.

Key words: retroperitoneal lymphangiomyomatosis, diagnostics.

Лимфангиомиоматоз (ЛАМ) – редкое заболевание неизвестного происхождения, встречающееся исключительно у женщин репродуктивного возраста и характеризующееся диффузной гамартмноподобной пролиферацией гладкомышечных клеток лимфатических сосудов [5, 8]. Имеются данные о связи ЛАМ с мутациями генов комплекса туберозного склероза TSC1 или, чаще, TSC2, которые ответственны за синтез белков hamartin и tuberin [2, 6]. Легочная форма лимфангиомиоматоза является наиболее типичной локализацией данной патологии [9]. Случаи изолированного поражения брюшинного пространства без вовлечения легких встречаются крайне редко и вызывают диагностические трудности, особенно в плане дифференциального диагноза опухолевой патологии [1, 4]. В большинстве наблюдений ретроперитонеальный ЛАМ не имеет клинических проявлений и выявляется случайно на операциях или при исследовании органов брюшной полости и таза лучевыми методами [3, 5]. Хирургическое вмешательство

является основным способом лечения, его эффективность определяется распространенностью патологического процесса. При локализованной форме ЛАМ и радикально проведенной операции прогноз, как правило, благоприятный. Однако у многих больных с внелегочным ЛАМ в течение 1–2 лет после постановки диагноза развивается поражение легких, которое, безусловно, ухудшает прогноз заболевания [7].

Мы представляем случай лечения распространенного ретроперитонеального лимфангиоматоза с данными компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), а также результатами гистологического и иммуногистохимического исследований.

Пациентка У., 34 лет, была переведена из гинекологической клиники Сибирского государственного медицинского университета, где обследовалась по поводу бесплодия, в урологическое отделение клиники общей хирургии 06.02.12. В клинике гинекологии во время операции (Laparoskopia,

Chromohydrotubatio) обнаружена жидкостная опухоль левой половины забрюшинного пространства малого таза с интимной связью с магистральными сосудами. Удаление образования оказалось технически невозможным. В послеоперационном периоде проведено дополнительное инструментальное обследование, результаты которых представлены ниже.

Экскреторная урография: аномалия развития: полное удвоение правой почки. Множественные сосудистые конфликты справа. Признаки объемного образования левой половины забрюшинного пространства, малого таза, оттесняющего левый мочеточник и мочевой пузырь.

Ирригоскопия, ирригография: признаки образования забрюшинного пространства, оттесняющего сигмовидную кишку вправо и нисходящую кишку кзади. Долихоколон. Долихосигма.

Компьютерная томография: КТ-ангиография органов брюшной полости и малого таза с внутривенным введением 100 мл Омнипака. Заключение: образование забрюшинного пространства, размером по длине до 25 см, в поперечнике – 7,3х6,5 см, спускающееся в малый таз, состоящее из множественных узлов жидкостной плотности с накоплением контраста по периферии, со значительным сдавлением левой общей, наружной и внутренней подвздошной вен, с тесным прилеганием к подвздошным артериям слева с четкими их контурами, с тесным прилеганием к органам малого таза. Необходимо дифференцировать лимфангиому и параганглиому.

Магнитно-резонансная томография органов малого таза (рис. 1) выполнена в T1- и T2-взвешенных режимах толщиной до 3,5 мм с контрастным усилением гадолинийсодержащим контрастным препаратом в дозе 0,1 ммоль/кг. Заключение: МР-картина соответствует гигантскому сосудистому образованию левой подвздошной области и забрюшинного пространства, следует дифференцировать венозную или лимфатическую природу образования, прежде всего гигантскую лимфангиому, топически образование расположено вдоль левой яичниковой вены.

Проведенные методы диагностики подтвердили наличие у пациентки большого жидкостного образования забрюшинного пространства слева. Образование распространялось от нижнего полюса левой почки до паховой связки слева, интим-



Рис. 1. МРТ исследование. T2-взвешенное изображение в корональной проекции. В забрюшинном пространстве, в околопочечной клетчатке слева определяется гигантское многокамерное кистозное образование

но охватывало все анатомические образования забрюшинного пространства и малого таза. В урологическом отделении 08.02.12 выполнена пункционная биопсия под УЗИ контролем иглой 18 G при помощи биопсийного пистолета. Для исследования взята жидкость из полости образования и 3 фрагмента стенки опухоли. Результаты цитологического исследования жидкости: лимфоцитарная инфильтрация преимущественно зрелыми лимфоцитами. Гистологическое исследование: веретенчатая опухоль без признаков злокачественности.

Удаление опухоли забрюшинного пространства слева через лапаротомный доступ произведено 28.02.12. Выполнена широкая мобилизация нисходящей ободочной кишки и средней трети левого мочеточника, при этом была выделена передняя стенка опухоли. Соблюдая принципы абластики, жидкость из опухоли, общим объемом до 2 л, была удалена. После этого произведена мобилизация опухоли от нижнего полюса и ворот почки, затем от общих подвздошных сосудов, с которыми образование было интимно связано. Далее опухоль представлена двумя отростками – латеральный распространялся кнаружи от наружных подвздошных сосудов до паховой связки, медиальный – вдоль внутренних подвздошных сосудов, широкой маточной связки, пузырных и маточных сосудов, элементов запирающего пучка, достигая до лонной кости и запирающего отверстия. Выделение опухоли на этом уровне произведено только острой диссекцией с использованием оптического 3-кратного увеличения. Удалено несколько увеличенных лимфа-



Рис. 2. Макропрепарат. Опухоль забрюшинного пространства, после удаления из нее 2000 мл жидкости

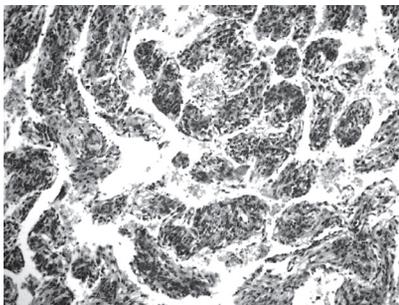


Рис. 3. Микрофото. Стенки спавшихся кистозных образований представлены пучками коротких веретеновидных клеток. Окраска гематоксилином и эозином, ×100

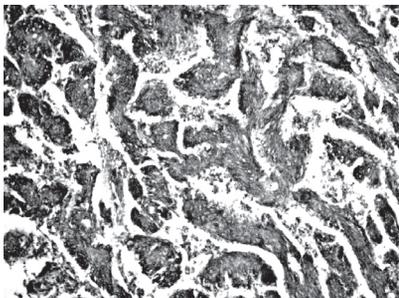


Рис. 4. Микрофото. ИГХ-исследование. Выраженная экспрессия гладкомышечного актина (SMA) клетками опухоли, ×100

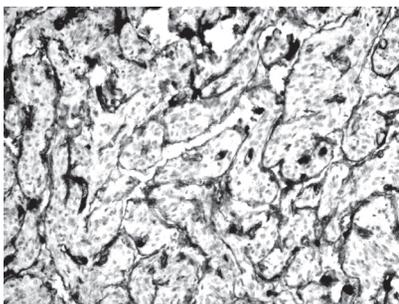


Рис. 5. Микрофото. ИГХ-исследование. Экспрессия эндотелиальными клетками лимфатических сосудов CD31, ×200

тических узлов из парааортальной и подвздошной областей. Операция завершена дренированием забрюшинного пространства. На макропрепарате опухоль представлена спавшимися кистозными образованиями с толщиной стенок до 2,5 см (рис. 2), они были представлены белесовато-розовой тканью плотно-эластичной консистенции с очагами кровоизлияний.

Послеоперационный период протекал удовлетворительно. Заживление раны первичным натяжением, швы сняты на 14-е сут. Единственной проблемой оказалась длительная лимфорея, продолжительностью 3 нед. Больная выписана 30.03.12 под наблюдение онколога.

Для планового гистологического исследования операционный материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Проводку материала осуществляли по стандартной методике. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали водным раствором гематоксилина и эозина. При микроскопии опухолевая ткань, представлена разрастанием веретеновидных клеток. Ядра клеток овальной формы, нормохромные, некоторые просветленные. В некоторых клетках имеются мелкие ядрышки. Митозы в клетках не определяются. Опухолевые клетки расположены в виде пучков вокруг мелких сосудов и анастомозируют между собой. Между пучками определяются сосуды синусоидного типа, в большинстве просветов которых определяется гомогенная слегка зернистая розовая жидкость, местами с очагами свежих кровоизлияний, представленными полями нелизированных эритроцитов (рис. 3). В препаратах, маркированных как лимфатический узел, ткань лимфатического узла определяется в краевой зоне, на остальном протяжении имеется опухолевая ткань, аналогичная по морфологическому строению описанному выше.

Для уточнения гистотипа новообразования и дифференциальной диагностики проведено иммуногистохимическое исследование. Во всех веретеновидных клетках отмечалась выраженная экспрессия гладкомышечного актина SMA (клон *ast-a*, RTU, Dako) (рис. 4), наблюдалась фокальная экспрессия в части клеток десмина (клон D33, RTU, Dako). При обработке ткани опухоли с использованием антитела к CD31 (клон IC70A, RTU, Dako) в опухоли выявлялась обширная сосудистая сеть (синусоиды и капилляры), представленная CD31 позитивными эндотелиальными клетками,

расположенными преимущественно в один слой между и вокруг пучков гладких миоцитов (рис. 5). В опухолевой ткани отсутствовала экспрессия AE1/AE3 (Clone AE1/AE3 RTU, Dako), SI00 (поликлональное, RTU, Dako), хромогранина A (поликлональное, RTU, Dako), синаптофизина (Clone SY38, RTU, Dako), CD117 (*c-kit*, RTU, Dako). Экспрессия CD34 (Clone QBEnd 10, RTU, Dako) в веретеновидных клетках отсутствовала и была позитивна только в эндотелии мелких капилляров. Ядерная экспрессия Ki67 (MIB1, RTU, Dako) отмечена менее чем в 1 % опухолевых клеток.

Дифференциальный диагноз проводился между лимфаденомой/лимфангиоматозом, гемангиоперицитомой, ангиоматоидным вариантом параганглиомы, экстраабдоминальным GIST. По совокупности результатов гистологического, иммуногистохимического исследования с учетом данных лучевых методов исследования был сформулирован диагноз: Ретроперитонеальный лимфангиолейомиоматоз.

Таким образом, данное клиническое наблюдение демонстрирует успешное лечение распространенного ретроперитонеального лимфангиомиоматоза и свидетельствует о том, что точная постановка диагноза данной патологии возможна только при использовании комплекса методов лучевой и морфологической диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнова Г.Ф., Кириченко А.Д., Фетисова Т.И. и др. Редкий случай диссеминированного перитонеального лейомиоматоза // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 1 (37). С. 85–87.
2. Fukunaga M., Mistuda A., Shibuya K. et al. Retroperitoneal lymphangiomyomatosis associated with endosalpingiosis // APMIS. 2007. Vol. 115. P. 1460–1465.
3. Hancock E., Tomkins S., Sampson J. et al. Lymphangiomyomatosis and tuberous sclerosis // Respir. Med. 2002. Vol. 96. P. 7–13.
4. Jaiswal V.R., Baird J., Fleming J. et al. Localized retroperitoneal lymphangiomyomatosis mimicking malignancy. A case report and review of the literature // Arch. Pathol. Lab. Med. 2003. Vol. 127 (7). P. 879–882.
5. Kebria M., Black D., Borelli C. et al. Primary retroperitoneal lymphangiomyomatosis in a postmenopausal woman: a case report and review of the literature // Int. J. Gynecol. Cancer. 2007. Vol. 17. P. 528–532.
6. Lee H.J., Park H.S., Kim Y.J. et al. Retroperitoneal lymphangiomyomatosis: sonography, computed tomography, magnetic resonance imaging, and positron emission tomography with pathologic correlation // J. Ultrasound. Med. 2010. Vol. 29 (12). P. 1837–1841.
7. Maruyama H., Ohbayashi C., Hino O. et al. Pathogenesis of multifocal micronodular pneumocyte hyperplasia and lymphangiomyomatosis in tuberous sclerosis and association with tuberous sclerosis genes TSC1 and TSC2 // Pathol. Int. 2001. Vol. 51. P. 585–594.
8. Matsui K., Tatsuguchi A., Valencia J. et al. Extrapulmonary lymphangiomyomatosis (LAM): clinicopathologic features in 22 cases // Hum. Pathol. 2000. Vol. 31. P. 1242–1248.
9. Matsui K., Travis W.D., Gonzalez R. et al. Association of lymphangiomyomatosis (LAM) with endosalpingiosis in the retroperitoneal lymph nodes: report of two cases // Int. J. Surg. Pathol. 2001. Vol. 9. P. 155–162.
10. Sullivan E.J. Lymphangiomyomatosis: a review // Chest. 1998. Vol. 114. P. 1689–1703.

Поступила 10.01.13