

А.В. Чорнобай

Українська медична стоматологічна академія  
(Полтава)

## Визначення клітинного імунітету та апоптозу як показників ефективності хемотропного лікування злоякісних пухлин прямої кишки

### Cellular immunity and apoptosis as indices of chemoradiotherapy treatment efficacy in rectal cancer

Колоректальний рак — актуальна проблема сучасної онкології. Щороку в світі реєструється близько 800 тис. нових випадків цього захворювання і 440 тис. смертей від нього. В Україні сьогодні злоякісні новоутвори ободової і прямої кишки серед пухлин шлунково-кишкового тракту посідають 1-ше місце, а захворюваність складає 33 випадки на 100 тис. населення. Причому половина (16 випадків на 100 тис.) припадає на рак прямої кишки (РПК). Основним методом лікування цієї патології класично вважається хірургічний та його поєднання з променевою терапією (ПТ), як у перед-, так і в післяопераційному режимі. За даними дослідників, ПТ хоч і зменшує поширеність рецидивів, але не впливає на кількість віддалених метастазів. Хемотерапія (ХТ) РПК використовується, головним чином, в ад'ювантному та в паліативному режимі, що пов'язано з резистентністю цих солідних пухлин до цитостатиків. Про використання цитостатичної терапії в неоад'ювантному режимі дотепер у дослідників немає однозначної думки, і питання про можливість та доцільність такого лікування залишається відкритим. За останні 10 років ХТ у комплексі лікування РПК досягла значних успіхів завдяки розробці та впровадженню в клініку нових цитостатичних препаратів (іринотекан, кселода, томудекс, оксалиплатин та ін.). Але незважаючи на всі позитивні аспекти, основний показник ефективності лікування хворих на РПК з місцевопоширеними стадіями — тривалість життя — залишається незадовільним.

Резистентність пухлин до ХТ — основна причина низької ефективності протипухлинних препаратів. Зараз існує поняття про два основні види стійкості пухлин — генетично зумовлені та не генетично зумовлені фактори резистентності. Генетична резистентність пов'язана із гетерогенністю пухлини, ампліфікацією генів і постійним збільшенням кількості функціонуючих копій генів, а також з мутацією та селекцією резистентних клонів. Не генетична стійкість характеризується місцезнаходженням, характером росту та розмірами пухлини. Крім того, розрізняють фармакодинамічні та метаболічні фактори резистентності [1, 2]. Рак прямої кишки належить до пухлин, малочутливих до цитостатичної терапії. За існуючими даними, це відбувається за рахунок Р-глікопротеїну, який міститься на поверхні мембрани ракової клітини [3]. Високодозна цитостатична терапія

РПК дає об'єктивний ефект тільки на початковому етапі лікування, викликаючи при цьому тяжкі побічні ускладнення [1, 3, 4]. Хемотропні препарати знищують клітини, викликаючи в них, як правило, некроз або апоптоз. Останній, який виникає вже під дією низьких доз протиракових препаратів, і некроз, що відбувається під дією вищих концентрацій, елімінуючи клітини різними шляхами, сумарно визначають цитотоксичний ефект препарату. Більшість дослідників схильні надавати даному механізму загальні клітин першорядного значення [5, 6]. Некроз з однаковою ефективністю вбиває ракові й нормальні клітини і тому ослаблення його і посилення апоптозу є одним із найважливіших завдань ХТ раку. Крім того, слід зазначити: особливість динаміки розвитку апоптозу в пухлині при впливі хемотропної терапії така, що пік рівня апоптозу спостерігається в пухлині приблизно через 24 год після введення препарату та опромінювання, зі зниженням до вихідного рівня через 72 год [6–8]. Тому зараз всі режими ХТ колоректального раку, і зокрема РПК, побудовані на тривалих інфузіях препаратів — 24–48-годинних і навіть до 120 годин [4]. Водночас із розробками просторово-часових режимів ХТ розробляється й інший напрямок — використання модифікаторів цитостатиків. Найпоширеніший модифікатор — лейковорин (фолінієва кислота), що підвищує цитотоксичний ефект 5-фторурацилу за рахунок відновлення фолату [1, 4].

Зважаючи на викладене вище, розробка нових методик і режимів неоад'ювантної хемотропної терапії РПК набуває наукової та практичної значущості. Мета роботи полягала у визначенні ефективності неоад'ювантної ПТ та ендолімфатичної хемотропії (ЕПХТ) у лікуванні хворих на РПК.

Об'єктом дослідження були 32 таких пацієнти віком 48–67 років ( $57 \pm 9$ ) із стадіями процесу — Т3–4 та локалізаціями пухлини практично в усіх відділах кишки. Хворі були обстежені клінічно та інструментально (обстеження лабораторні, біохімічні, рентгенологічні, ультразвукові та ін.). Діагноз у всіх пацієнтів було верифіковано до початку лікування. В усіх випадках морфологічно визначено аденокарциноми різного ступеня диференціювання. Під час морфологічного дослідження також визначали рівень спонтанного апоптозу пухлин. Для кількісної оцінки останнього в ультратонких, напівтонких та парафінових зрізах підраховували кількість клітин — загальну і з апоптозно зміненими ядрами, але ще збереженою цитоплазмою, а також апоптозних тілець, що утворилися після фрагментації ядра і розпаду клітин. У тих же зрізах підраховували кількість мітозів. Апоптоз оцінювали на 100 клітин (тобто у відсотках). Всього в кожному препараті підраховували 50–100 клітин. При підрахунку спонтанного (початкового) апоптозу показники були на рівні 0,8–0,9 %.

На початок лікування хворі були розподілені на 2 групи. До 1-ї увійшли 17 осіб, які на першому етапі



лікування отримали передопераційну дистанційну ПТ у статичному режимі на гамма-терапевтичному апараті АГАТ-С із джерелом  $^{60}\text{Co}$  разовою осередковою дозою 2 Гр, ритм фракціонування 5 разів на тиждень до сумарної осередкової дози (СОД) 38–42 Гр. Всі вони отримали внутрішньовенне введення імуномодулятора тималіну в разовій дозі 10 мг (сумарно до 100–120 мг). Другу групу склали 15 пацієнтів, які на першому етапі лікування отримали курс модифікованої ЕПХТ за схемою МРФ. Разові та сумарні дози цитостатиків складали: метотрексат — 25 мг (50 мг), 5-фторурацил — 500–750 ммг (2–3 г), цисплатин — 10 мг (30 мг). Крім того, перед інфузіями 5-фторурацилу пацієнтам ендолімфатично вводили лейковорин (кальцію фолінат) у дозі 25 мг (сумарно до 100–150 мг) та імуномодулятор тималін у разовій дозі 10–20 мг (сумарно до 100 мг). Схема ЕПХТ (МРФ) була обрана як така, що підвищує ефективність цитостатиків за рахунок вибору якісного складу та послідовності введення препаратів. Так, метотрексат вводили завжди перед 5-фторурацилом, що підвищувало активність останнього за рахунок метаболічних механізмів. Цисплатин вводили водночас з 5-фторурацилом, що посилювало синергізм їх дії. Перебіг лікування контролювали клінічними аналізами. Особливе значення надавали динаміці змін у загальному аналізі крові, зокрема динаміці лейкоцитів (табл. 1).

В обох досліджуваних групах відбувалося зниження загальної кількості лейкоцитів, але в групі хворих, що отримували ПТ, значнішим було зниження лімфоцитів, а в 2-й групі, де в передопераційному періоді застосовували модифіковану ЕПХТ, навпаки, збільшувалася кількість лімфоцитів.

До початку першого етапу лікування (ХТ та ПТ) і по його закінченні, перед хірургічним втручанням, у хворих досліджуваних груп визначали популяції та субпопуляції лімфоцитів (CD-маркерів) за допомогою моноклональних антитіл, а також імунорегуляторний індекс  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+(\text{Th}/\text{Ts})$ . Результати дослідження представлені в табл. 2.

В обох групах хворих до початку лікування визначалися ознаки імунодефіциту за кількісними показниками Т-системи, зниження кількості  $\text{CD3}$  відповідно на  $11 \pm 4\%$  та  $\text{CD4}$  —  $12 \pm 3\%$ , знижені практично в 2 рази показники імунорегуляторного індексу у пацієнтів обох груп. При цьому показники  $\text{CD22}$  (В-лімфоцитів) залишалися практично незмінними порівняно із середньою нормою. Після ПТ показники Т-системи залишалися зниженими, а імунорегуляторний індекс — навіть на  $25\%$ . У 2-й групі хворих після проведення модифікованої ЕПХТ кількість Т-лімфоцитів ( $\text{CD3}$ ) збільшилась, а В-лімфоцитів ( $\text{CD22}$ ) лишилася практично на початковому рівні, тоді як імунорегуляторний індекс зріс на  $50\%$ . Отримані результати говорять про те, що модифікована ЕПХТ активує показники клітинного імунітету.

Після закінчення передопераційного лікування всі хворі були прооперовані: 27 виконані сфінктерозберігальні операції, а 5 — екстирпація прямої кишки. Перебіг післяопераційного періоду в усіх пацієнтів характеризувався відсутністю особливих ускладнень. При морфологічному вивченні видалених препаратів увага приділялася визначенню лікувального патоморфозу та наявності й ступеня апоптозу в пухлинних клітинах. В 1-й групі хворих (з передопераційним опромінюванням) рівень апоптозу зріс до  $2,1\%$ , а в 2-й (передопераційна ЕПХТ) — до

Таблиця 1

Зміни в загальному аналізі крові

| Термін обстеження | Група | Кількість пацієнтів | Середнє значення показників ( $M \pm m$ ) |                         |                |               |               |                |
|-------------------|-------|---------------------|-------------------------------------------|-------------------------|----------------|---------------|---------------|----------------|
|                   |       |                     | лейкоцити ( $10^9/\text{л}$ )             | питома частка популяції |                |               |               |                |
|                   |       |                     |                                           | нейтрофіли              |                | еозинофіли    | моноцити      | лімфоцити      |
|                   |       |                     |                                           | палички                 | сегмент        |               |               |                |
| Перед лікуванням  | 1     | 17                  | $6,1 \pm 0,9$                             | $3,2 \pm 0,29$          | $6,2 \pm 1,7$  | $2,3 \pm 0,2$ | $6,7 \pm 0,9$ | $23,0 \pm 2,9$ |
|                   | 2     | 15                  | $4,7 \pm 0,8$                             | $3,3 \pm 0,4$           | $64,0 \pm 2,1$ | $2,1 \pm 0,3$ | $5,9 \pm 0,8$ | $19,0 \pm 2,3$ |
| Після лікування   | 1     | 17                  | $5,7 \pm 0,7$                             | $2,1 \pm 0,3$           | $68,0 \pm 4,1$ | $1,9 \pm 0,4$ | $6,1 \pm 1,2$ | $17,0 \pm 2,5$ |
|                   | 2     | 15                  | $5,1 \pm 0,5$                             | $1,9 \pm 0,5$           | $63,0 \pm 3,7$ | $1,7 \pm 0,5$ | $7,3 \pm 1,7$ | $24,0 \pm 2,7$ |

Таблиця 2

Популяції та субпопуляції лімфоцитів, %

| Термін обстеження | Група | Кількість пацієнтів | CD3        | CD4        | CD8        | CD22       | CD4+/CD8+(Th /Ts) |
|-------------------|-------|---------------------|------------|------------|------------|------------|-------------------|
|                   |       |                     | %          |            |            |            |                   |
| Перед лікуванням  | 1     | 17                  | 17,0 ± 1,7 | 27,0 ± 1,9 | 30,0 ± 1,9 | 31,0 ± 2,1 | 1,2 ± 0,5         |
|                   | 2     | 15                  | 16,0 ± 1,8 | 26,0 ± 1,8 | 29,0 ± 2,1 | 34,0 ± 1,9 | 1,3 ± 0,3         |
| Після лікування   | 1     | 17                  | 19,0 ± 1,5 | 23,0 ± 2,1 | 26,0 ± 1,7 | 30,0 ± 1,8 | 0,9 ± 0,7         |
|                   | 2     | 15                  | 21,0 ± 1,7 | 25,0 ± 2,5 | 31,0 ± 1,7 | 32,0 ± 2,3 | 1,8 ± 0,7         |



3,2 %, тобто в 2,2–2,8 разу (порівняно зі спонтанним рівнем).

Аналізуючи отримані результати залежно від методу цитостатичного впливу на пухлинний осередок, слід зазначити, що при використанні неоад'ювантної модифікованої ЕПХТ активується рівень клітинного імунітету (загалом за рахунок фракції CD3 та збільшення імунорегуляторного індексу Th/Ts), що, в свою чергу, прямо пропорційно корелює зі збільшенням рівня індукованого апоптозу в пухлинному осередку.

Таким чином, визначення клітинного імунітету і рівня апоптозу та порівняння динаміки цих показників можна повністю використовувати в комплексі критеріїв, що визначають ефективність хемопротеневого лікування РПК.

## Література

1. Гершанович М.Л., Філов В.А., Акимов М.А. Введение в фармакотерапию злокачественных опухолей. — СПб: Сотис, 1999. — 143 с.
2. Cohen J.J., Al-Rubeai M. // Trends Biotechnol. — 1996. — Vol. 13. — P. 281.
3. Крутова Т.В., Островская Л.А., Рыкова В.А., Корман Д.Б. // Изв. Акад. наук. Сер. Биол. — 1994. — № 5. — С. 738–744.
4. Гарин А.М., Хлебнов А.В. Справочник практической химиотерапии. — М.: Росмэн, 1995. — 309 с.
5. Сивашинский М.С., Салганик Р.И. // Вопр. онкол. — 2001. — Т. 47, № 1. — С. 66–68.
6. Davis A.J., Tannock I.F. // Lancet Oncol. — 2000. — Vol. 1. — P. 86–92.
7. Burger M.M. // Ther. Umsch. — 2001. — Vol. 58. — P. 695–700.
8. Davis D.W., Buchholz T.A., Hess K.R. et al. // Clin. Cancer Res. — 2003. — Vol. 9. — P. 955–960.

Д.А. Чумак, І.М. Кривчанський,  
О.П. Пересунько, Ф.С. Назарко,  
А.В. Саргош

Буковинський державний медичний  
університет (Чернівці)

**Застосування  
електрогальванохемотерапії  
в лікуванні лейкоплакії  
та склерозуючого лишаю вульви**

**The use of electrogalvanochemotherapy  
in treatment for leukopenia  
and craurosis of the vulva**

Лейкоплакію і склерозуючий лишай відносять до доброякісних передракових захворювань шкірно-слизового покриву вульви. Встановлено що вони патогенетично зумовлені нейрогенними, ендокринними, обмінними та інфекційними факторами [1–4].

Лейкоплакія і склерозуючий лишай є самостійними формами захворювання вульви і водночас різними стадіями єдиного процесу. Між лейкоплакією і склерозуючим лишаєм існують перехідні форми. Первинною вважають лейкоплакію, яка може стати фактором для розвитку склерозуючого лишаю [1, 5–9].

Лейкоплакія і склерозуючий лишай вульви, згідно із сучасними літературними даними, становлять поліетіологічні захворювання.

У 0,6 % жінок (від загальної кількості хворих на онкогінекологічні захворювання) виникає склерозуючий лишай. Він пов'язаний з менопаузою і розвивається на фоні дефіциту естрогенів, інволютивно-атрофічних процесів вульви, а також на фоні нейроендокринних факторів, часто у хворих з ожирінням і цукровим діабетом [1, 2, 6, 10].

Mahmud і співавт. вказують на інфекційний генез лейкоплакії і склерозуючого лишаю вульви і, зокрема, папіломавірусну інфекцію [11].

Лейкоплакія вульви — це доброякісне передракове захворювання. Вона супроводжується зроговінням і ущільненням епітелію соромітних губ і слизової оболонки малих статевих губ, покриттям їх білою плямою. Хворі скаржаться на сверблячку зовнішніх статевих органів.

Пацієнтки із склерозуючим лишаєм вульви скаржаться на сверблячку, яка посилюється вночі, і на сухість шкіри зовнішніх статевих органів, що призводить до травмування шкіри, інфікування і розвитку вульвіту, ранимості слизової оболонки, атрофії зовнішніх статевих органів та звуження входу в піхву.

Тривала сверблячка та інші скарги не минали від застосування мазей: преднізолонової, естрогенової, анестезинової, димедролової, 0,5 %-ної новокаїнової. Короточасне полегшення наставало від прийому знеболювальних і введення в підшкірну клітковину вульви 0,5 %-го розчину новокаїну.

Метою дослідження є вивчення ефективності електрогальванохемотерапії в лікуванні лейкоплакії та склерозуючого лишаю вульви.

Введення лікарських засобів за допомогою постійного струму широко застосовується у лікуванні багатьох захворювань. В порівнянні з іншими методами введення цитостатиків, електрогальванохемотерапія зменшує або повністю виключає їх побічну дію.

У доступній літературі немає повідомлень про застосування електрогальванохемотерапії (5-фторурацил чи дисплатин) у хворих на лейкоплакію і склерозуючий лишай вульви.

Проаналізовано результати лікування 93 хворих із лейкоплакією і склерозуючим лишаєм вульви. Вік хворих — від 36 до 85 р., тривалість захворювання — від 5 міс. до 8 р. Серед 82 пацієнток на цукровий діабет хворіли 11.

Було здійснено лікування за допомогою гальванічного апарата «Поток-1». На статеві губи, клітор і дистальну частину піхви накладали марлеву серветку, змочену розчином 5-фторурацилу (500 мг), до якого додавали 2 мл димексиду, поверх якої накладали негативний електрод. Другий, позитивний електрод накладали на шкіру куприка, поверх прокладки, змоченої фізіологічним розчином NaCl. Щільність струму при проведенні електрофорезу була 0,01–0,1 мА/см<sup>2</sup>. Курс лікування 15–20 процедур.