

© СИДОРЕНКО Ю.С., ФРАНЦИЯНЦ Е.М., ПАВЛЮКОВА О. В.,
ЧЕРЯРИНА Н.Д.

АУТОМИЕЛОХИМИОТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ПЕРВИЧНО-РЕЗИСТЕНТНЫХ БОЛЬНЫХ ЛИМФОГРАНУЛЕМАТОЗОМ

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, О. В. Павлюкова, Н.Д. Черярина
Ростовский научно-исследовательский онкологический институт
Росмедтехнологий, директор – акад. РАН и РАМН Ю.С. Сидоренко, г.
Ростов-на-Дону.

***Резюме.** Для улучшения результатов лечения первично-резистентных больных лимфогранулематозом, 15 пациенткам в возрасте 38-40 лет, с диагнозом: лимфогранулематоз с поражением периферических лимфоузлов, стадия III Б, нодулярный склероз, состояние после 3-х вводных циклов химиотерапии по схеме ABVD, радикальной лучевой программы и 3-х консолидирующих циклов химиотерапии по той же схеме, в качестве 2-й линии был применен метод с использованием химиотерапии на аутомиеловзвеси. Получен положительный ответ уже после 1-го введения химиопрепаратов: исчезновение кожного зуда и нормализация температуры тела, уменьшение размеров периферических лимфатических узлов при отсутствии признаков гематологической токсичности, наблюдалось усиление эффекта с последующими введениями, у 13 пациенток отмечена стойкая ремиссия, продолжающаяся 12-15 месяцев.*

***Ключевые слова:** лимфогранулематоз, первичная резистентность, костно-мозговая взвесь, химиотерапия.*

Сидоренко Юрий Сергеевич – акад. РАН и РАМН, директор Ростовского научно-исследовательского онкологического института; тел. 8 (863) 2519338.

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., профессор, руководитель гормональной лаборатории Ростовского научно-исследовательского онкологического института; e-mail: rnioi@list.ru, тел. 8 (863)2551301.

Павлюкова Ольга Викторовна, заведующая онкологическим отделением № 2 (для проведения химиогормонотерапевтического лечения) ГОУЗ «Онкологический диспансер Ростовской области»; тел. 8 (863) 2637370.

Применение даже самых эффективных схем химиотерапии (СЕР, СЕВД, В-САР) позволяет достичь полных ремиссий не более чем у 40-44% больных, при этом безрецидивная и общая выживаемость столь же коротки, как и при схемах первой линии, а в группе резистентных больных медиана выживаемости составляет в среднем лишь 1,3 года [3,5]. В последние годы предложено немало новых схем 2-ой линии, однако эффективность их остается на прежнем уровне. Предложена и успешно используется высокодозная химиотерапия под защитой пересадки аутологичного костного мозга и/или клеток-предшественниц кроветворения из периферической крови. Однако эффективность использования данной схемы лечения не превышает 10-15% по данным авторов. При этом отмечается чрезвычайно плохая переносимость и выраженная токсичность такого способа введения [11].

Проведя экспериментальные и клинические исследования и применяя разработанные в РНИОИ методы аутобиотерапии с использованием естественных сред организма, была показана высокая противоопухолевая активность и низкая токсичность аутомиелохимиотерапии при раке молочной железы, меланоме, раке легкого и раке прямой кишки [4,9,12]. Авторами было выявлено ее позитивное воздействие на иммунную систему больных с исходно сниженными показателями Т- и В - клеточного иммунитета, что имеет важное значение при лечении больных лимфогранулематозом, у которых отмечено снижение Т – клеточного

иммунитета. Кроме того, одной из отличительных особенностей экспериментальной миелохимиотерапии является достаточно высокое, по сравнению с внутривенным введением, накопление препарата, введенного на костномозговой взвеси в тимусе и костном мозге, что свидетельствует о тропности такого вида химиотерапии к лимфоидным тканям [13].

Учитывая мембранотоксическую активность опухолевых клеток, важно знать влияние опухолевого процесса на форменные элементы крови и обеспечиваемые ими гомеостатические системы организма [8], так как известно, что своеобразный устойчивый обмен веществ между опухолью и здоровыми тканями происходит при участии кровеносной системы. Установлена тесная взаимосвязь между антиоксидантной активностью крови и метаболической активностью опухоли, поэтому показатели активности свободнорадикальных процессов считаются и информативными для прогноза клинического течения рака и оценки эффективности его лечения [6].

С целью улучшения результатов лечения первично-резистентных больных лимфогранулематозом, нами был разработан и применен метод с использованием химиотерапии на аутомиеловзвеси.

Материалы и методы

В исследование включены 18 пациенток в возрасте 38-40 лет, с диагнозом: лимфогранулематоз с поражением периферических лимфоузлов, стадия III Б, нодулярный склероз, состояние после 3-х вводных циклов химиотерапии по схеме ABVD, радикальной лучевой программы и 3-х консолидирующих циклов химиотерапии по той же схеме. Стадия заболевания определялась согласно принятой в настоящее время классификации Ann Arbor [10]. После проведенного инициального лечения ремиссия у этих пациенток не наступила, имели место увеличенные надключичные и подкрыльцовые лимфоузлы, кожный зуд, слабость, потливость, субфебрильная температура тела до 37,5-37,8⁰С.

Через 3-8 недель после установления факта отсутствия ремиссии всем больным под местным обезболиванием осуществляли трепанопункцию подвздошной кости для забора 150 мл костномозговой взвеси, которую затем центрифугировали 30 мин при 1500 об/мин, отбирали клеточную массу, добавляли стерильный физиологический раствор в объеме равном отобранной плазме, инкубировали с химиопрепаратами: доксорубицин – 25 мг/м², блеомицин - 10 мг/м², винбластин – 6 мг/м², дакарбазин – 375 мг/м² в термостате в течении 30 мин, при температуре 37°С, а затем вводили пациенту внутривенно капельно.

Плазму костномозговой взвеси делили на 2 части, замораживали при – 40°С с последующим хранением при -18°С.

На 14-й и 28-й дни те же химиопрепараты и в тех же дозировках после предварительной инкубации в термостате в течение 30 мин, при температуре 37°С с одной из порций размороженной плазмы костномозговой взвеси, предварительно разведенной в 2 раза стерильным физиологическим раствором, вводили пациенту внутривенно капельно.

Весь комплекс лечебных процедур повторяли через две недели.

Общее состояние больных оценивали с учетом шкалы Карновского, токсичность определяли с использованием «Шкалы токсичности» (Common Toxicity Criteria NCIC). Оценка непосредственных результатов лечения проводилась на основании анализа клинических критериев, рекомендованных ВОЗ.

Материалом для изучения активности свободнорадикальных процессов служили плазма и эритроциты периферической крови больных. В качестве контроля использовали кровь здоровых доноров (20 человек). Определяли: активность каталазы [7], суммарную пероксидазную активность сыворотки крови [2], активность супероксиддисмутазы [15], содержание витаминов А и Е [14] и малонового диальдегида [1].

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica 6,0 (Stat-Soft, 2001). Оценка достоверности произведена с

использованием t-критерия Стьюдента. Уровень $P < 0,05$ принимали как значимый.

Результаты и обсуждение

Прежде всего, необходимо отметить, что все больные перенесли процедуру легко, отсутствовали тошнота, рвота, признаки гематологической токсичности. Установлено, что уже после 1-го введения химиопрепаратов на клеточной массе костномозговой взвеси у всех больных отмечалось стойкое исчезновение кожного зуда и нормализация температуры тела, эти признаки сохранялись в течение всего последующего срока наблюдения. У 14 пациенток отмечено уменьшение размеров периферических лимфатических узлов на 50%.

После 2-го введения химиопрепаратов на одной порции плазмы костномозговой взвеси еще у 4 пациенток отмечено уменьшение размеров периферических лимфатических узлов более чем на 50%. У 14 пациенток, ответивших на 1-е введение химиопрепаратов, размеры периферических лимфоузлов сократились еще приблизительно на 25% (суммарно – на 75%).

Непосредственные клинические результаты оценивались через 21 день после последнего введения химиопрепаратов, в период наибольшей реализации лечебного эффекта. У 15 пациенток отмечена стойкая ремиссия, продолжающаяся 15-18 месяцев, у 3 женщин – стабилизация процесса в течение 13 и 14 месяцев.

Одним из критериев эффективности и безопасности проводимой терапии является степень выраженности токсических осложнений. Лейкопения I-II степени отмечена у 7 пациенток (46,7%). Ни в одном случае при применении указанного способа не было токсичности III и IV степени.

Найдено, что до начала аутомиелохимиотерапии содержание витаминов А и Е в плазме крови больных ЛГМ было снижено в 4 и 6,4 раза относительно показателей в плазме крови здоровых доноров (табл. 1). При этом коэффициент соотношения витаминов Е/А в плазме крови оказался снижен в 1,6 раза относительно показателя в группе сравнения. В эритроцитах уровень

содержание витамина А снижался при ЛГМ практически вдвое, а уровень витамина Е был в 1,6 раза ниже, чем у здоровых доноров. Коэффициент соотношения витаминов Е/А в эритроцитах больных с ЛГМ повышался относительно показателя в группе сравнения на 18,8% (табл. 1).

До начала аутомиелохимиотерапии в плазме и эритроцитах крови больных найдено увеличение активности каталазы – на 24,4% и 14,4% соответственно. СПА в плазме крови больных с ЛГМ была повышена относительно показателя в группе сравнения в 1,9 раза, что указывало на стрессорную реакцию организма.

В эритроцитах крови больных с ЛГМ найдено снижение в 2,2 раза активности СОД. При этом коэффициент соотношения СОД/каталаза в эритроцитах крови этих пациентов снижался в 2,5 раза относительно показателей в группе сравнения (табл. 1).

Найденное снижение активности системы антиокислительной защиты в мембранах эритроцитов больных с ЛГМ сопровождалось накоплением, по сравнению со здоровыми донорами, одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА на 47,2%.

Очевидно, что в крови больных со злокачественными лимфомами Ходжкина имелись нарушения в процессах свободнорадикального окисления, что обуславливало состояние пероксидазного стресса, приводящего к дезадаптации организма на субклеточном уровне.

Применение в дальнейшем таким больным предложенного нами варианта лечения с использованием аутомиелохимиотерапии привело к положительной динамике изучаемых показателей. На 21-е сутки после завершения специального лечения в плазме крови больных обнаружено повышение уровня витаминов А и Е в 3 и 4,3 раза соответственно. При этом уровень витамина А не имел достоверных различий с показателями у здоровых доноров, а содержание витамина Е было снижено относительно контрольных показателей на 32,8%. (табл. 1). В эритроцитах периферической крови больных в этот срок найдено увеличение относительно фоновых

показателей содержания витаминов А и Е в среднем в 1,4 раза и нормализации коэффициента их соотношения и в плазме крови и в эритроцитах.

Активность СОД в эритроцитах этих больных увеличилась, по сравнению с фоном, в 1,7 раза и была на 20,8% ниже контрольных значений. Известно, что эффективность каскада антиокислительных ферментов зависит не столько от активности отдельных его звеньев, сколько от их взаимоотношения. В этой связи коэффициент СОД/каталаза увеличился на 84,4% и оказался лишь на 25,3% ниже нормативных показателей. Такое состояние звеньев антиоксидантной защиты привело к нормализации содержания МДА в мембранах эритроцитов больных (табл. 1).

В целом полученные результаты свидетельствуют о значительном улучшении структурно-функционального состояния форменных элементов крови первично-резистентных больных лимфогранулематозом и подтверждают эффективность предложенной терапии.

Применение фракций аутомиеловзвеси в качестве среды для введения химиопрепаратов обуславливает комбинирование их специфического противоопухолевого действия с дополнительной неспецифической стимуляцией иммунной системы, вызываемой клеточными элементами костного мозга и опухолевыми антигенами, содержащимися в плазме костномозговой взвеси и трансформированными действием химиопрепаратов. Вероятно, этим и обусловлен выраженный клинический эффект, который достигался, что не маловажно, при использовании тех же цитостатиков, которые применялись в инициальном лечении.

Таким образом, использование аутомиеловзвеси при химиотерапии больных лимфогранулематозом позволяет преодолевать резистентность к используемым цитостатикам и определяет стойкий клинический эффект.

AUTOMIELOCHEMOTHERAPY FOR TREATMENT OF THE PRIMARY RESISTANCE LYMPHOGRANULOMATOSIS PATIENTS

U.S. Sidorenko, E.M. Frantsiyants, O.V. Pavlukova, N.D. Cheryarina
Rostov Research Oncological Institute,
Russian medical Technologies

Abstract. Chemotherapy with automielosuspension improves the treatment results of patients with the primary resistance lymphogranulomatosis

Key words: lymphogranulomatosis, primary resistance, medullary suspension, chemotherapy.

Литература

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М., 1972. – 252с.
2. Внуков В.В. Железосодержащие белки и протеолитическая активность в сыворотке крови при гипероксии и защитном действии мочевины: автореф. дис. ... канд. биол. Наук. – Харьков, 1979. – 22 с.
3. Демина Е.А. Современные представления о лечении первичных больных лимфомой Ходжкина // Современная онкология. – 2004. – Т.6, №1. – С.33-38.
4. Джабаров Ф.Р. Роль аутомиелохимиотерапии в комплексном лечении местнораспространенного рака прямой кишки. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион // Естественные науки. Приложение. – 2005. – № 10. – С. 34-36.
5. Имянитов Е.Н. Эпидемиология и биология лимфомы Ходжкина // Практическая онкология. – 2007. – Т.8, № 2. – С. 53-56.
6. Князева М.В., Павлова Т.Д., Карташов С.М. Перекисное окисление липидов, антиоксидантная система – связь с метаболической активностью опухоли и прогнозом течения рака яичников // Экспериментальная онкология. – 2000. – № 22. – С. 280.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

8. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция), Алматы. – 2003. – 808с.

9. Николаева Н.В. Неoadьювантная аутомиелохимиотерапия в комплексном лечении больных местно-распространенным раком молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. Наук. – Ростов-на-Дону, 2003. – 29 с.

10. Пробатова Н.А., Тупицин Н.Н., Флейшман Е.В. Основные принципы и диагностические критерии пересмотра Европейско-Американской классификации лимфоидных опухолей (Т-клеточные лимфомы, болезнь Ходжкина) // Архив патологии. – 1998. – №4. – С.61-70.

11. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой. – М., 2005. – С. 446-466.

12. Сидоренко Ю.С. Авт. св-во № 940379 от 23.02.1982г. Способ лечения рака // Бюллетень информации. – 1982. – № 7.

13. Сидоренко Ю.С., Франциянц Е.М., Николаева Н.В. Экспериментальное обоснование метода аутомиелохимиотерапии // Сб. статей «Современные подходы к терапии больных распространенным раком отдельных локализаций». – М., 2005. – С. 648-653.

14. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. – 1984. – №6. – С.362-365.

15. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. – 1971. – Vol.44. – P. 276-281.

**Состояние некоторых звеньев антиокислительной системы и
содержание МДА форменных элементов крови больных
лимфогранулематозом**

Показатели		Доноры (n=20)	Фон	После лечения
Витамин А (ед./мг б.)	плазма	0,2±0,04	0,05±0,01 ¹	0,15±0,02 ²
	эритроциты	0,97±0,06	0,5±0,07 ¹	0,75±0,06 ^{1,2}
Витамин Е (ед./мг б.)	плазма	0,58±0,08	0,09±0,02 ¹	0,39±0,04 ^{1,2}
	эритроциты	3,1±0,1	1,9±0,3 ¹	2,5±0,1 ^{1,2}
Коэф Е/ А	плазма	2,9±0,4	1,8±0,15 ¹	2,6±0,3 ²
	эритроциты	3,2±0,3	3,8±0,2 ¹	3,3 ±0,2 ²
Каталаза (нмоль /мг белка)	плазма	59,0±2,2	73,4±5,4 ¹	68,2±4,7 ¹
	эритроциты	2173±15,1	2486±31,1 ¹	2286±19,3 ^{1,2}
СОД (ед.акт. /мг белка)	эритроциты	171,5±13,2	79,3±7,5 ¹	135,9±10,2 ^{1,2}
Коэф. СОД/ каталаза	эритроциты	0,79±0,05	0,32±0,02 ¹	0,59±0,04 ^{1,2}
СПА (ед. акт.)	плазма	1,8±0,2	3,5±0,3 ¹	2,4±0,3 ^{1,2}
МДА (нМ/мл)	эритроциты	7,2±0,3	10,6±0,8 ¹	7,4±0,5 ²

Примечание: ¹ – достоверно по отношению к значениям доноров ($P < 0,05$);

² – достоверно по отношению к фоновым значениям ($P < 0,05$).