

эффект — в 37% случаев. При повторных курсах химиотерапии у тех же больных достигается сходный или более значительный противорвотный эффект. В случаях неэффективности дозу зифрана следует увеличить за счет дополнительного введения 8 мг после цисплатина. При этом в 1/3 случаев достигается значительный эффект, в остальных — умеренный. Более низкие результаты получены при применении зифрана у больных, прежде отмечавших значительную рвоту при лечении цисплатином, несмотря на использование метоклопрамида или комбинации метоклопрамида и преднизолона. Значительный эффект получен в 6%, умеренный эффект — в 50% случаев. Введение дополнительной дозы зифрана в количестве 8 мг после цисплатина оказалось эффективным в 2/3 случаев. Возможно, что в этой группе больных начальный режим лечения зифраном должен состоять первоначально из двух введений препарата по 8 мг, до и после цисплатина. Если рвота при 1-м курсе была вызвана карбоплатином, применение зифрана (8 мг перед карбоплатином) в этих резистентных случаях было высокоэффективно. Полный или значительный эффект достигнут в 72% случаев. Побочных эффектов при использовании зифрана не отмечено. Зифран обладает значительным противорвотным эффектом при цитостатической химиотерапии.

© Коллектив авторов, 1994
УДК 616-006.6-085: 615.37

*М.И. Давыдов, З.Г. Кадагидзе, В.А. Нормантович,
Б.Е. Полоцкий, Д.М. Мхеидзе, А.В. Ившина,
Т.Р. Алексеева, С.Н. Караман, А.В. Васильев,
Т.И. Зайцева*

НОВЫЕ АСПЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО: МЕХАНИЗМ, РЕАЛИЗАЦИЯ, ЭФФЕКТ

НИИ клинической онкологии

Сегодня не вызывает сомнения положение, согласно которому процесс, формально определяемый как местно-распространенная форма рака легкого, по сути своей носит системный характер. И это кажется бесспорным в той же степени, в какой представляются условными большинство так называемых радикальных операций, выполняемых при таких формах. Реальность этого положения подтверждается невысокими 5-летними результатами операций.

Это положение является основным аргументом в пользу комбинированного лечения, при котором вслед за неоадьювантной химиотерапией, предполагающей уменьшение первичного очага и девитализацию субклинических метастазов, следует радикальное удаление опухоли с региональными лимфоколлекторами. Лечение завершается этапом послеоперационной адьювантной химиотерапии. В качестве рационального

12. Smith D.B. et al // Proc. Ann. Amer. Soc. Clin. Oncol. — 1991. — Vol. 10. — A1127.
13. Smith D.B. et al. // Ann. Oncol. — 1991. — Vol. 2, N 8. — P. 607—608.
14. Tonato M. et al. // Congress on the Neo-juvant Chemotherapy, 3-rd, Paris, 1991, Febr. 6—9. — P. 63.

Поступила 18.01.93 / Submitted 18.01.93

*M.I. Davydov, Z.G. Kadagidze, V.A. Normantovich,
B.E. Polotsky, D.M. Mheidze, A.V. Ivshina,
T.R. Alekseyeva, S.N. Karaman, A.V. Vasiliev,
T.I. Zaitseva*

NON -SMALL CELL LUNG CANCER: MECHANISM, REALIZATION, EFFECT

Research Institute of Clinical Oncology

It is indoubted to-day that the process formally determined as locally advanced lung cancer is actually a systemic disease. This statement is certain to the same degree as seems doubtful the so called radicality of surgery performed in such cancer types. This consideration is confirmed by poor 5-year results of the surgery.

These reasons speak in support of the concept of combined treatment consisting of neoadjuvant chemotherapy aimed to reduce the primary tumor and devitalize subclinical metastases to be followed by radical removal of the tumor and regional lymph collectors, and post-operative adjuvant chemotherapy. A rational adjunct to this combination is absolute or relative T-cell immunostimulation which is to smooth the serious after-effects of multicycle systemic chemotherapy.

We have developed a novel concept of immunotherapy based on certain regimens of *in vitro* treat-

компонента этой комбинации вводится дополнительный элемент — абсолютная или относительная Т-клеточная иммуностимуляция, способная смягчить жесткие иммуносупрессорные последствия многокурсовой системной химиотерапии.

Нами разработана принципиально новая концепция иммунохимиотерапии, основанная на воздействии при определенных режимах относительно высоких (лечебных) доз химиопрепаратов на собственные или аллогенные лимфоидные клетки *in vitro* с последующей соответственно ре- или инфузией продуктов их взаимодействия [5].

Идея использования собственных лимфоцитов [2] — аутолимфохимиотерапия (АЛХТ) — основана на 2 предположительных механизмах реализации иммунологического эффекта: 1) превалирующее подавление цитостатиками супрессорной активности лимфоцитов в объеме циркулирующей лимфы; 2) выделение лимфоцитами при контакте с высокими дозами химиопрепаратов гуморальных медиаторов типа лимфо- и цитокинов (интерлейкин, интерферон и т.д.).

АЛХТ предусматривает дренирование грудного лимфатического протока и наружное дуктоюгулярное шунтирование [3] с использованием центральной лимфы в количествах, сопоставимых с ее циркулирующим объемом (1500,0—1800,0).

Применение аллогенных донорских лимфоцитов в тех же режимах (лимфохимиотерапия без клеток — ЛХТБК) основана на возможности получения таким путем гуморальных медиаторов, выделяемых лимфоидными клетками, — лимфо- и цитокинов. При ЛХТБК взаимодействие лимфоцитов с химиопрепаратами сопровождается, следовательно, удалением непосредственно лимфоидных клеток.

Целью работы явилось изучение возможностей АЛХТ и ЛХТБК в лечении генерализованного и местно-распространенного немелкоклеточного рака легкого.

Пролечено 26 больных с распространенными формами рака легкого: 8 — с генерализованными (1-я группа), 18 — с превалированием местно-распространенных форм (2-я группа).

Распространенность процесса оценивалась по системе TNM (1989).

В 1-й группе распространенность процесса составляла: T2—3N2M1OSS — 4; T3N3M1LYM, HEP — 1; T2N3M1PUL — 1; T3N2M1LYM — 1. Плоскоклеточный неороговевающий рак отмечен у 4, ороговевающий — у 2, железистый — у 1 больного.

Один больной год назад по поводу плоскоклеточного ороговевающего рака перенес расширенную комбинированную пульмонэктомию (T3N1M0) с последующей телегамматерапией (РОД 1,2—2 Гр; СОД 52 Гр) и поступил в отделение с поражением паратрахеальных и прескаленных лимфоузлов, синдромом сдавления верхней полой вены, дыхательной недостаточностью III стадии.

Среди мужчин 51—66 лет 7 человек ранее не лечились. 7 больным выполнено дуктоюгулярное шунтирование. В 1 случае дренировать проток не удалось в связи с прорастанием его прескаленного фрагмента метастатическими лимфоузлами. Этому больному выполнена ЛХТБК, остальным — АЛХТ. В 6 наблюде-

ment of auto- or allogeneous lymphoid cells with high (therapeutic) dose chemopharmaceuticals and respective re- or infusion of products of their interaction to follow [5].

The idea to use autolymphocytes [2], i.e. autolymphochemotherapy (ALTC), is based on two presumable mechanisms of immunological effect: 1) prevailing inhibition of lymphocyte suppressors' activity in circulatory lymph; 2) release of humoral mediators, such as lympho- and cytokines (interleukin, interferon, etc) by lymphocytes after interaction with high dose chemotherapeutics.

The ALCT involves drainage of the pectoral lymph duct and external ductojugular shunting [3] using central lymph in amount compatible with its circulatory volume (1500.0—1800.0).

The employment of allogeneous donor's lymphocytes in the same regimens (cell-free lymphochemotherapy — CFLCT) is based on generation of humoral mediators released by lymphoid cells, i.e. lympho- and cytokines. In the CFLCT the interaction of lymphocytes and chemotherapeutics is thus accompanied by removal of the lymphoid cells.

The purpose of our investigation was to study potentials of ALCT and CFLCT in treatment for generalized and locally advanced non-small cell lung cancer.

The study was performed in 26 patients with advanced lung cancer including 8 generalized cancer cases (group 1) and 18 cases with mainly locally advanced cancer (group 2).

The disease advance was assessed according to the TNM (1989) system.

The disease advance in group 1 was: 4 T2-3N2M1OSS; 1 T3N3M1LYM, HEP; 1 T2N3M1PUL; 1 T3N2M1LYM. There were 4 squamous cell non keratinizing, 2 keratinizing and 1 glandular cancers.

One patient had a history of extensive combined pulmonectomy for squamous cell keratinizing carcinoma (T3N1M0) with tele-gamma-therapy (at a single tumor dose 1.2—2 Gy, total tumor dose 52 Gy) a year before. On admission the patient presented involvement of paratracheal and prescalenic lymph nodes, superior vena caval syndrome, grade III respiratory failure.

Among 51-66-year old men there were 7 previously untreated patients and 7 had undergone ductojugular shunting. We failed to drain the duct in the first case due to metastatic lymph nodes in its prescalenic fragment. This patient received CFLCT, the rest of the patients were given ALCT. In 6 patients the treatment was given with a 3-day VAM schedule (vincristine 1 mg/m², day 1; adriamycin 30 mg/m², days 1, 2, 3; methotrexate 20—25 mg/m², days 1, 2, 3). Two patients were treated with CAF (cyclophosphamide 600 mg/m²; adriamycin 30 mg/m², 5-fluorouracil 500 mg/m² days 1, 2, 3).

The treatment was tolerated satisfactorily. Dyspnea (2—5 days) was detected in 6, alopecia in 8, stomatitis (7—10 days) in 4, leukocyte count less than 2000 in 4, less than 1000 in 1 patient. In one case the tumor destruction resulted in hemoptysis

ниях использовали 3-дневную схему — VAM (винкристин 1 мг/м^2 — 1-й день; адриамицин 30 мг/м^2 — 1, 2, 3-й дни; метотрексат $20\text{—}25 \text{ мг/м}^2$ — 1, 2, 3-й дни), у 2 больных — схему САФ (циклофосфан 600 мг/м^2 , адриамицин 30 мг/м^2 , 5-фторурацил 500 мг/м^2 — 1, 2, 3-й дни).

Пациенты переносили лечение относительно удовлетворительно. Диспепсия (2—5 дней) отмечена у 6, алопеция — у 8, стоматит (7—10 дней) — у 4, лейкопения менее $2,0 \cdot 10^9/\text{л}$ — у 4, менее $1,0 \cdot 10^9/\text{л}$ — у 1 больного. В 1 наблюдении при распаде опухоли кровохарканье переросло в легочное кровотечение.

В ходе лечения прослежен отчетливый симптоматический эффект — уменьшения кашля, болей в костях и грудной клетке, улучшение общего самочувствия.

Объективный эффект выражался в уменьшении размеров первичной опухоли, корневых и медиастинальных лимфоузлов, улучшении вентиляции соответствующих отделов легких, а стало быть, и функциональных показателей.

Рентгенологический анализ эффективности осуществляли путем вычисления (на томограммах) градиента объемов опухоли до и после лечения. В большинстве случаев форму опухоли можно с некоторой погрешностью оценить как шар, эллипсоид или куб и рассчитать объем с помощью известных геометрических формул. При неправильной форме очага исходили из средней величины между максимальным и минимальным размерами опухоли. При сочетании стабилизации перибронхиальных контуров опухоли с регрессией эндобронхиального ее компонента и восстановлением проходимости самих бронхов эффект оценивали в 10%. Степень регрессии, вычисленную таким образом, рассчитывали с точностью до 5%. Такая точность представлялась необходимой для исследования корреляционных параллелей с иммунным статусом.

Таким образом, степень регрессии первичного опухолевого узла оказалась следующей: 0% — 1; 0% с уменьшением корневых и медиастинальных лимфоузлов — 1; 50% — 2; 60% — 1; 70% — 2. Из 3 больных с бронхоскопической картиной центрального рака эндоскопические признаки регрессии свыше 50% отмечены у 2. Из 4 больных, обследованных при помощи галия цитрата, у 3 очаги гиперфиксации радиофармпрепарата (РФП) в легких после лечения перестали определяться. В 1 наблюдении накопление РФП в опухолевом очаге уменьшилось на 65%.

У больного с синдромом верхней полой вены АЛХТ проводили синхронно с телегамматерапией (СОД 40 Гр). Достигнут полный эффект. Ремиссия продолжается 9 мес. 3 больным проведен повторный курс лечения (ЛХТБК), после чего выполнена телегамматерапия с ремиссией 2, 6 и 7 мес. Судьба оставшихся 4 больных следующая:

T2N2M1OSS — эффект продержался после 2-го курса ЛХТБК в течение 1,5 мес, после чего в связи с обострением мочекаменной болезни и отказом от дальнейшего лечения пациент переведен на симптоматическую терапию;

T3N2M1LYM — эффект продержался после 2-го курса АЛХТ на протяжении 1 мес, после чего перенес

which developed into pulmonary hemorrhage.

During treatment there was a marked symptomatic effect as amelioration of cough, ostealgia and thoracalgia, better general condition.

The objective response manifested itself as reduction in the primary tumor, radical and mediastinal lymph nodes, improvement of ventilation of corresponding pulmonary segments, and, therefore, of functional characteristics.

The effect assessment by X-ray consisted of calculation (in tomograms) of cancer volume gradient before and after treatment. In most cases the tumor shape could be taken about similar to the sphere, ellipsoid or cube, and the volume was calculated by well-known geometrical formulas. If a tumor had an irregular shape the calculation was based on the mean of the tumor maximal and minimal dimensions. The effect was evaluated as 10% in cases of tumor peribronchial outline stabilization, regression of its endobronchial component and restoration of bronchial conductivity. The regression degree was calculated with upto 5% accuracy. This accuracy was necessary for study of correlation with the immunity status.

Thus, the degree of regression of the primary tumor node was assessed as 0% in 1, 0% with reduction in radical and mediastinal lymph nodes in 1, 50% in 2; 60% in 1; 70% in 2 cases. Of 3 patients with bronchoscopically determined central cancer a regression over 50% was detected in two cases. In 3 of 4 patients undergoing gallium citrate test there were no detectable foci of radiodrug (RD) hyperfixation after treatment. In one case the RD accumulation in the tumor showed a 65% fall.

In the patient with superior vena caval syndrome ALCT was performed simultaneously with telegamma-therapy at a total tumor dose of 40 Gy. Complete response was achieved. The remission has been lasting for 9 months. Three patients underwent retreatment (CFLCT) and telegamma-therapy which resulted in remissions of 2, 6 and 7 months. The fate of the rest 4 patients is as follows.

T2N2M1OSS — after a 1.5 mo remission following the second cycle of CFLCT the patient presented exacerbation of urolithiasis and refused further treatment. Symptomatic treatment was performed.

T3N2M1LYM — a 1 mo remission following the second ALCT cycle, after that the patient had severe influenza and progressing disease 2 mo later.

T3N3M1LYM, HEP — the effect was followed up during 3 cycles of treatment. There was evidence of progressing disease on its completion. The patient received symptomatic therapy.

T4N3M1OSS — after the first cycle of ALCT the hemoptysis developed into pulmonary hemorrhage which was controlled by conservative means. Symptomatic therapy.

Study of the patients' group 1 showed satisfactory tolerance of lymphochemotherapy and marked immediate antitumor effect. This allowed application of ALCT and CFLCT in combined treatment for locally advanced lung cancer.

тяжелую форму гриппа, по излечении от которого (спустя 2 мес) появились признаки прогрессирования;

T3N3M1LYM, НЕР — эффект прослежен в течение 3 курсов лечения, по завершении которых появились признаки прогрессирования процесса; переведен на симптоматическую терапию;

T4N3M10SS — в ходе реализации эффекта после 1-го курса АЛХТ кровохарканье переросло в легочное кровотечение — остановлено консервативными мерами; переведен на симптоматическую терапию.

Анализ 1-й группы больных привел к выводу об удовлетворительной переносимости лимфохимиотерапии и отчетливом непосредственном противоопухолевом эффекте, что позволило использовать АЛХТ и ЛХТБК в комбинированном лечении местно-распространенных форм рака легкого.

Во 2-й группе (18 мужчин 41—64 лет) процесс носил локализованный характер. Исходную распространенность процесса определяли на основании комплексного клинко-рентгенологического (включая компьютерную томографию), эндоскопического, радиоизотопного и ультразвукового обследования.

I стадию выявили у 1, IIб — у 2, IIа — у 9, IIIб — у 6 пациентов. Плоскоклеточный ороговевающий рак отмечен в 8, неороговевающий — в 7, низкодифференцированный плоскоклеточный — в 1, железистый — в 2 случаях.

Исходное состояние 17 больных расценено как удовлетворительное, 1 пациента — как средней тяжести из-за выраженной дыхательной недостаточности. При поступлении боли в грудной клетке отмечали 8, кровохарканье — 3, лихорадку до 39°C — 8, осиплость голоса — 1 человек.

Всем 18 больным выполнено наружное дуктоуглярное шунтирование под местной анестезией из левого параллельного надключичного разреза. 3-дневный курс АЛХТ по схеме VAM (14 больных) и CAF (1), 1-дневный курс САМ (3) (циклофосфан 1—1,5 г/м², адриамицин 60 мг/м², метотрексат 30 мг/м²) перенесли относительно удовлетворительно.

Спустя 3—4 нед провели повторный курс лимфохимиотерапии в варианте АЛХТ у 8 и ЛХТБК у 10 больных.

Переносимость лечения была относительно удовлетворительная: алопеция отмечена у 18, диспепсия (2—5 дней) — у 18, стоматит (7—10 дней) — у 6, лейкопения менее 2,0·10⁹/л — у 6, менее 1,0·10⁹/л — у 3 человек.

Клинический эффект проявлялся в уменьшении или исчезновении кашля и кровохарканья, нормализации температуры, болевого синдрома, дыхательной недостаточности, осиплости.

По данным контрольной фибробронхоскопии, полная регрессия эндобронхиального компонента опухоли выявлена у 3, частичный эффект — у 11, стабилизация отмечена у 4 больных.

При скинтиграфии легких галия цитратом из 10 обследованных положительная динамика отмечена у 9, стабилизация — у 1. У 2 из 9 больных очаги гиперфиксации (214 и 210%) РФП после лечения в зоне проекции опухоли не выявлялись. Снижение степени гиперфиксации РФП более чем на 40—50% определя-

ли в группе 2 (18 мужчин в возрасте 41—64 лет) прогрессирование болезни оценивалось по комплексной клинической, рентгеновской (включая компьютерную томографию), эндоскопической, радионуклидной и ультразвуковой диагностике.

Были 1 стадия I, 2 стадия IIb, 9 стадия IIa и 6 стадия IIIb случаев. Плоскоклеточный кератизирующий рак был диагностирован в 8, некератизирующий в 7, плохо дифференцированный плоскоклеточный карцинома в 1, железистый в 2 случаях.

Базисное состояние было оценено как удовлетворительное в 17 пациентов и как умеренно тяжелое в 1 случае из-за выраженной дыхательной недостаточности. При поступлении 8 пациентов имели боли в грудной клетке, 3 — гемоптизис, 8 — лихорадка до 39°C, 1 — осиплость голоса.

Все 18 пациентов подверглись внешнему дуктоуглярному шунтированию под местной анестезией из левого параллельного надключичного разреза. Лечение состояло из 3-дневного цикла АЛХТ по схеме VAM (14) и CAF (1), 1-дневного цикла САМ (3) (циклофосфан 1—1,5 г/м², адриамицин 60 мг/м², метотрексат 30 мг/м²) — переносили относительно удовлетворительно.

Другой цикл лимфохимиотерапии по АЛХТ (8) и CFLCT (10) был проведен 3—4 недели после первого лечения.

Толерантность была относительно удовлетворительной: алопеция — 18, диспепсия (2—5 дней) — 18, стоматит (7—10 дней) — 6, лейкоциты менее 2,000 — 6, менее 1,000 — 3.

Клинический эффект проявился в улучшении или исчезновении кашля и гемоптизиса, нормализации температуры, болевого синдрома, осиплости.

При фибробронхоскопии обнаружены 3 полные регрессии опухоли эндобронхиального компонента, 11 частичные ответы и 4 стабильные заболевания.

Лунгосцинтиграфия (с галлием цитратом) была выполнена у 10 пациентов для выявления изменений в 9 и стабилизация в 1 пациенте. В 2 из 9 пациентов очаги гиперфиксации (214 и 210%) не были обнаружены в зоне проекции опухоли. Уменьшение гиперфиксации было более чем на 40—50% в 3, 100% в 3 и 300% в 1 пациенте.

Регрессия по рентгеновскому снимку была 0% в 2, 0% + уменьшение в 1, 10% в 3, 30% в 1, 50% в 4, 60% в 2, 70% в 2, 90% в 2 случаях. В 1 случае была 10% опухоль.

Операция была выполнена у 17 пациентов (1 пациент отказался от операции). Все операции были обширные и комбинированные, и были выполнены 3—4 недели после второго цикла лимфохимиотерапии. Пневмонэктомия была выполнена в 14 случаях, включая 7 случаев комбинированной операции с резекцией перикарда, непарной вены, диафрагмы; 1 с циркулярной резекцией трахеальной бифуркации. Лобэктомия с циркулярной резекцией главного бронха была выполнена в 2 случаях. 13 операций были радикальными и условно радикальными, 2 — паллиативными и 1 была диагностической торакотомией из-за обширного вовлечения верхней вены. Постоперационное течение было относительно благополучным.

Удаленные опухоли были исследованы на предмет метастазирования. Не было метастазирования в 7,

лось у 3, на 100% — у 2 и на 300% — у 1 пациента.

Степень регрессии, рассчитанная рентгенологически: 0% — 2; 0% с уменьшением корневых и медиастинальных лимфоузлов — 1; 10% — 3; 30% — 1; 50% — 4; 60% — 2; 70% — 2; 90% — 2 человека. У 1 больного объем опухоли увеличился на 10%.

Прооперировали 17 больных (1 больной от операции отказался). Все операции носили расширенный и комбинированный характер и выполнялись спустя 3—4 нед после 2-го курса лимфохимиотерапии. Пульмонэктомии выполнены у 14 больных, из них комбинированные с резекцией перикарда, непарной вены, диафрагмы (7); с клиновидной (1) и с циркулярной резекцией бифуркации трахеи (1). Лобэктомии с циркулярной резекцией главного бронха выполнены у 2 больных. 13 операций выполнили радикально и условно радикально; в 2 случаях — паллиативно, в 1 — пробная торакотомия в связи с прорастанием верхней полой вены на большом протяжении. Послеоперационный период протекал у всех больных относительно гладко.

В удаленных опухолях исследовали лечебный патоморфоз. Признаки лекарственного патоморфоза отсутствовали в 7 случаях, патоморфоз I степени (некроз более 25% раковых клеток) отмечен в 2, II степени (некроз более 50% раковых клеток) — в 3, III степени (некроз более 75% раковых клеток) — в 4 случаях.

При анализе рентгеноэндоскопической регрессии и патоморфоза обращают на себя внимание следующие сопоставления. Так, при плоскоклеточном раке в 4 случаях выраженного противоопухолевого эффекта в ответ на лимфохимиотерапию (например, эндоскопический эффект свыше 50%, рентгенологический 60% или эндоскопический эффект 100%, рентгенологический 70%) признаки лечебного патоморфоза выявлены не были. Еще в 1 наблюдении при полном некрозе опухолевых очагов в красной зоне среди лимфоидных инфильтратов были выявлены небольшие комплексы клеток рака без видимых признаков патоморфоза. Отсутствие промежуточных форм между полярными состояниями, какими являются некроз и неизменная опухолевая клетка, обычно, химиорезистентная, как, впрочем, и отсутствие патоморфоза при отчетливой регрессии значительной части опухолевой ткани в ответ на лимфохимиотерапию, на наш взгляд, объяснимы реализацией иммунологических (киллерных) механизмов противоопухолевого эффекта. Последние, как известно, обладая выраженной специфичностью, приводят к некрозу раковой клетки или же не реализуются вообще, оставляя опухолевую клетку неповрежденной.

Анализ непосредственного противоопухолевого эффекта во 2-й группе в сравнении с 1-й проводился более комплексно в связи с учетом у прооперированных больных степени лечебного патоморфоза. Например, единственное наблюдение, в котором при плоскоклеточном раке легкого рентгенологически после лимфохимиотерапии зафиксировано увеличение объема опухоли на 10% с учетом III степени лечебного патоморфоза (некроз более 75% опухолевых клеток), мы трактовали как степень регрессии — 30%.

Таким образом, степень регрессии как непосредст-

grade I pathomorphosis (more than 25% cancer cell necrosis) in 2, grade II (more than 50% cancer cell necrosis) in 3 and grade III (more than 75% cancer cell necrosis) in 4 cases.

Comparison of tumor regression by X-ray and endoscopy versus pathomorphosis revealed the following. There was no drug pathomorphosis in 4 cases with squamous cell carcinoma showing marked response to lymphochemotherapy (e.g. a more than 50% response by endoscopy, 60% by X-ray or 100% by endoscopy and 70% by X-ray). In 1 case with complete necrosis of tumor foci there were small amounts of tumor cells in the edge area among lymphoid infiltrations that showed no evidence of pathomorphosis. The absence of intermediate states between necrosis and the intact tumor cell (refractory to chemotherapy, as a rule) as well as no pathomorphosis and marked regression of a considerable tumor segment in response to lymphochemotherapy may, in our opinion, be due to realization of immunological (killer) mechanisms of the antitumor effect. As is known these mechanisms are characterized by pronounced specificity and therefore either lead to necrosis of tumor cells or are not realized at all and leave tumor cells undamaged.

Unlike in group 1 the immediate antitumor effect in group 2 was assessed with account of tumor pathomorphosis in the patients operated on. For example, in the only case with squamous cell lung carcinoma showing by X-ray a 10% tumor growth after lymphochemotherapy the regression was evaluated as 30% because of grade III drug pathomorphosis (more than 75% tumor cell necrosis).

Thus, the immediate effect of lymphochemotherapy for non-small cell lung cancer with preponderance of advanced disease was as follows: percentage of regression: 0 in 2; 0 + lymph node regression in 1; 10 in 1; 30 in 1; 35 in 2; 60 in 2; 70 in 2; 75 in 4; 90 in 2; 95 in 1 cases.

Of note that besides rather high (61%) partial response there were no cases of progressive disease.

We studied both groups scintigraphically to compare gradients of RD accumulation in the tumor with degree of resulting regression.

There was no mathematical correlation of the parameters and a tendency to direct correlation could be observed only when the RD accumulation gradient exceeded 50%.

The results obtained are significant (partial response 11/18) as standard regimens usually give a 20—25% response [4]. Hence the question arises: what is the contribution of the immune component in the result obtained?

For this purpose we studied the patients' immunity status before, at 2—3 weeks following ALCT and at the same interval after the second cycle of lymphochemotherapy. Composition of the lymphocyte population was determined by expression of lymphocyte subpopulation differentiation antigens (CD3, CD4, CD8, CD22) as assessed by indirect immunofluorescence (IF) with ICO monoclonal antibodies. The reactivity was evaluated using a FACScan cytometer. We also deter-

венный эффект лимфохимиотерапии немелкоклеточного рака легкого с превалированием местно-распространенных форм оказалась следующей: 0% — у 2; 0% с регрессией лимфоузлов — у 1; 10% — у 1; 30% — у 1; 35% — у 2; 60% — у 2; 70% — у 2; 75% — у 4; 90% — у 2; 95% — у 1 больного.

Помимо относительно высокой (61%) частичной регрессии, отмечено отсутствие случаев прогрессирования заболевания.

При анализе обеих групп больных, обследованных скинтиграфически, сделана попытка сопоставления градиента накопления РФП в опухолевом очаге со степенью результирующей регрессии.

Оказалось, что математическая корреляция параметров отсутствует и тенденция к прямой корреляционной зависимости появляется лишь при градиенте накопления РФП в опухоли, превышающем 50%.

Полученные результаты представляются весьма выразительными — частичная регрессия у 11 из 18 больных; ни одного случая прогрессирования. Стандартные методы лечения по этим схемам, как известно, сопровождаются объективным эффектом лишь в 20—25% наблюдений [4]. В этой связи безусловный интерес представляет вопрос: какова лепта иммунного компонента в полученном результате?

С этой целью проводили исследование иммунного статуса больных до АЛХТ, через 2—3 нед после ее проведения, спустя такое же время после 2-го курса лимфохимиотерапии. По экспрессии дифференцировочных антигенов субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD22) определяли в реакции непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител серии ICO. Реакцию учитывали на проточном цитофлюориметре FACScan. Определяли также функциональную активность лимфоцитов в реакции бластной трансформации на фитогемагглютинин и уровень сывороточных иммуноглобулинов. Следует отметить, что иммунологические исследования предвзяла оценка жизнеспособности лимфоидных клеток *in vitro* по окраске трипановым синим. Оказалось, что после инкубации с химиопрепаратами в приведенных выше дозах жизнеспособность лимфоцитов не страдает.

Анализ показывает, что в результате лимфохимиотерапии нормализуется структура лимфоидной популяции, а именно, процентное содержание Т-клеток (по маркерам CD3, CD5, CD7) и субпопуляций хелперов (индукторов CD4), а также лимфоцитов, экспрессирующих линией неограниченные антигены (HLA-1, CD18, CD45 и CD43). Параллельно с этим абсолютное количество этих популяций и субпопуляций лимфоцитов снижается или имеет тенденцию к снижению; доля В-лимфоцитов (определяемая по антигенам CD22, М-цепь IgM и наличию HLA-DR молекул) не изменяется, однако абсолютное количество В-лимфоцитов также снижается; процентное содержание активированных и цитотоксических лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD38 и RFB-1, повышается сверх нормальных значений, в то время как абсолютное количество этих клеток также снижается; как процентное содержание, так и абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD116, представленный на

минированной лимфоцитарной активности в трансформации реакции на фитогемагглютинин и сывороточные иммуноглобулины. Перед иммунологическим исследованием мы оценили жизнеспособность лимфоидных клеток в *in vitro* тестах с использованием трипанового синего. Тесты показали, что не было снижения жизнеспособности лимфоцитов после инкубации с фармакологическими препаратами в вышеупомянутой дозировке.

Анализ показал, что лимфохимиотерапия привела к нормализации состава лимфоидной популяции с точки зрения процента Т-клеток (по CD3, CD5, CD7 маркерам) и CD4 хелперных индукторов, а также лимфоцитов, экспрессирующих лимфоцит-неограниченные антигены (HLA-1, CD18, CD45 и CD43). Хотя абсолютное количество этих лимфоцитарных популяций и субпопуляций снижалось или имело тенденцию к снижению; доля В-лимфоцитов (определяемая по антигенам CD22, М-цепь IgM и наличию HLA-DR молекул) оставалась той же, но их абсолютное количество также снижалось; процент активированных и цитотоксических лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD38 и RFB-1, увеличивался, в то время как их абсолютное количество также снижалось; как процент и абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD116, обнаруженный на NK-клетках, а также антиген CD25, обнаруженный на лимфоцитах с мембранным рецептором интерлейкина-2 (IL-2), снижались значительно.

Таким образом, АЛХТ приводит к снижению практически всех лимфоцитарных популяций и субпопуляций, изученных нами, но процент Т-клеток и их субпопуляций, экспрессирующих лимфоцит-неограниченные маркеры, а также активированных/цитотоксических клеток тем самым увеличивался до нормальных уровней (Т-лимфоциты и клетки с лимфоцит-неограниченными маркерами) или даже превышал их (активированные/цитотоксические лимфоциты) из-за вовлечения в дифференциацию клеток-предшественников. Не было никакой компенсаторной реакции в В-лимфоцитах.

Что касается NK-клеток и клеток, несущих рецептор IL-2, они были наиболее чувствительны к лечению, показывая снижение как в абсолютном количестве, так и проценте среди других лимфоцитов. Однако, снижение Rc-IL-2 лимфоцитов должно рассматриваться как положительный фактор, поскольку их базовый уровень у пациентов, изученных нами, был повышен, что коррелировало с прогрессом заболевания.

Изменения в лимфоидной популяции после АЛХТ+СФЛХТ и после АЛХТ были сходными. Но они были более выражены после АЛХТ+СФЛХТ, что проявлялось в большей компенсаторной реакции в проценте клеток и их популяций и в большей степени снижении их абсолютного количества по сравнению с АЛХТ, что указывает на более сильное влияние АЛХТ+СФЛХТ на иммунную систему. Это не должно вызывать беспокойства В-клеток, уровень которых практически не изменился после АЛХТ+СФЛХТ.

Мы попытались изучить вовлечение различных иммунных параметров в эффект, наблюдаемый нами, и получили следующие результаты (таблица 1).

Анализ корреляции иммунологических параметров и противоопухолевого эффекта показал, что шанс эффективного лечения больше у пациентов с высоким

Таблица 1

Корреляционная зависимость между параметрами иммунного статуса больных на этапах лимфохимиотерапии и степенью полученного противоопухолевого эффекта

Этап лечения	Иммунный статус
До лечения	ICO-53 (абс.) (+0,52), ICO-46 (%) (+0,47), ICO-91 (абс.) (—0,56), GM1 (абс.) (—0,56), GM1 (%) (—0,53)
После АЛХТ	ICO-80 (абс.) (+0,52), ICO-46 (абс.) (+0,46)
После АЛХТ+ЛХТБК	ICO-90 (%) (+0,83), ICO-80 (%) (+0,59), ICO-31 (абс.) (—0,58), ICO-30 (%) (—0,66), ICO-30 (абс.) (—0,79), ICO-105 (%) (—0,63), ICO-105 (абс.) (—0,83), GM1 (абс.) (—0,45), GM1 (%) (—0,36) Коэффициент хелперы/супрессоры (—0,95)

Примечание. (+) и (—) — коэффициент соответственно прямой и обратной корреляции. Представлены статистически значимые корреляции.

НК-клетках, а также антиген CD25, представленный на лимфоцитах, несущих на своей мембране рецептор к интерлейкину-2 (IL-2), существенно снижается.

Таким образом, после проведения АЛХТ в той или иной степени происходит снижение практически всех изученных популяций и субпопуляций лимфоцитов, однако процентное содержание Т-клеток и их субпопуляций, клеток, экспрессирующих линей неограниченные маркеры, а также активированных/цитотоксических клеток компенсаторно увеличивается и достигает нормальных значений (Т-лимфоциты и клетки с линей неограниченными маркерами) либо даже превышает их (активированные/цитотоксические лимфоциты), что происходит за счет вовлечения в дифференцировку клеток-предшественников. Такой компенсаторной реакции не происходит у В-лимфоцитов.

Что касается НК-клеток и клеток, несущих рецептор к IL-2, то они оказываются наиболее чувствительными к проводимой процедуре, поскольку снижаются как их абсолютное количество, так и доля среди других лимфоцитов. Однако снижение Рц-IL-2⁺-лимфоцитов следует расценивать, по-видимому, положительно, так как у данной группы больных их количество исходно повышено, что коррелирует с распространенностью процесса.

В лимфоидной популяции после АЛХТ+ЛХТБК происходят изменения, аналогичные происходящим после АЛХТ. Вместе с тем они более выражены, что проявляется большим компенсаторным повышением доли клеток и популяций и большим снижением их абсолютных количеств, чем при АЛХТ, что позволяет

Table 1

Correlation of the patients' immunity parameters at lymphochemotherapy stages and the antitumor effect

Treatment stage	Immunity status
Before treatment	ICO-53 (abs.) (+0.52), ICO-46 (%) (+0.47), ICO-91 (abs.) (—0.56), GM1 (abs.) (—0.56), GM1 (%) (—0.53)
After ALCT	ICO-80 (abs.) (+0.52), ICO-46 (abs.) (+0.46)
After ALCT+CFLCT	ICO-90 (%) (+0.83), ICO-80 (%) (+0.59), ICO-31 (abs.) (—0.58), ICO-30 (%) (—0.66), ICO-30 (abs.) (—0.79), ICO-105 (%) (—0.63), ICO-105 (abs.) (—0.83), GM1 (abs.) (—0.45), GM1 (%) (—0.36), Helpers/Suppressors (—0.95)

Note. (+) and (—) indicate direct and reverse correlation coefficients, respectively. Statistically significant correlations are presented.

baseline (prior to treatment) levels of HLA-1⁺ and CD45⁺-cells and with low levels of B-lymphocytes and NK-cells, as well as in patients who preserve their high levels of CD5⁺-cells after ALCT, while present high levels of CD5⁺-cells and low levels of B-cells, NK-cells, cells with a receptor to IL-2 and a low ratio of helpers/suppressors after ALCT+CFLCT.

When analyzing probable mechanisms of ALCT effect we paid attention to the following circumstance. As is known the pectoral duct drains lymph collectors of the left lung only. Hence, in cancer of the left lung the number of activated lymphocytes in the central lymph must be significantly greater than in cancer of the right lung. What is clinical manifestation of this circumstance?

Patients with known tumor response to lymphochemotherapy were stratified into 2 groups — with left and right tumor site (table 2).

As seen in table 2 the immediate tumor response to lymphochemotherapy was much greater in cases with left tumor site than in cancer of the right lung.

Analysis of ALCT and ALCT+CFLCT effectiveness versus tumor side gives evidence in support of the previously discovered effect in mongrel mice: ALCT led to a considerable increase in accumulation of tritium-labeled 5-fluorouracil in tissue of transplanted soft-tissue sarcoma [1]. It seems that there are certain peculiarities in interaction of chemopharmaceuticals with activated lymphoid cells of the central lymph that determine pharmacodynamics of antitumor drugs.

The results presented in table 2 may be a clinical

говорить в целом о более жестком воздействии АЛХТ+ЛХТБК на иммунную систему. Это не касается изменений В-клеток, уровень которых после АЛХТ+ЛХТБК практически не снижается.

При попытке исследовать конкретную причастность тех или иных параметров иммунного статуса к прослеженному эффекту были получены результаты, представленные в табл. 1.

Анализ корреляционной зависимости иммунологических параметров и противоопухолевого эффекта позволяет сделать вывод, что шансы на эффективное лечение имеют больные с исходно (до лечения) высоким уровнем HLA-1⁺ и CD45⁺-клеток и с низким уровнем В-лимфоцитов и NK-клеток, а также пациенты, которые после АЛХТ сохраняют высокий уровень CD5⁺ и CD45⁺-клеток, а после АЛХТ+ЛХТБК имеют высокий уровень CD5⁺-клеток и низкие значения В-клеток, NK-клеток, клеток, несущих рецептор к IL-2, и низкое соотношение "хелперы/супрессоры".

При анализе вероятностных механизмов реализации эффекта АЛХТ обращено внимание на следующее обстоятельство. Как известно, грудной проток дренирует лимфатические коллекторы лишь одного легкого — левого. Стало быть, при раке левого легкого в центральной лимфе количество активированных лимфоцитов должно быть существенно больше, чем при правосторонней локализации процесса. Каково клиническое отражение этих рассуждений?

Больных с известной степенью регрессии в ответ на лимфохимиотерапию разделили на 2 группы — с лево- и правосторонней локализацией процесса (табл. 2).

Как видно из табл. 2, при поражении левого легкого непосредственный эффект лимфохимиотерапии существенно выше, чем при правосторонней локализации процесса.

Прослеженный градиент эффективности АЛХТ (в вариантах: АЛХТ, АЛХТ+ЛХТБК) в зависимости от стороны поражения позволяет обратить внимание на версию, сформулированную ранее в ходе эксперимента, выполненного на беспородных крысах, в котором было замечено, что АЛХТ сопровождается существенным увеличением индекса накопления меченого три-5-фторурацила в ткани перевиваемой мягкотканой саркомы [1]. Сделано предположение о существовании некоторых особенностей при взаимодействии химиопрепаратов с активированными лимфоидными клетками центральной лимфы, позволяющих придать фармакодинамике противоопухолевых препаратов определенную направленность.

Не исключено, что представленные в табл. 2 результаты отражают клиническое проявление эффекта, прослеженного в приведенном эксперименте.

Выводы. 1. Разработанные методы лимфохимиотерапии (АЛХТ, АЛХТ+ЛХТБК) распространенных форм немелкоклеточного рака легкого при использовании схем VAM, CAF, CAM позволяют достичь определенного непосредственного противоопухолевого эффекта (61% частичной регрессии, ни одного наблюдения прогрессирования в ответ на лечение).

2. Анализ лечения 26 больных методом АЛХТ, АЛХТ+ЛХТБК выявил большую чувствительность

Таблица 2

Table 2

Зависимость непосредственного противоопухолевого эффекта лимфохимиотерапии немелкоклеточного рака легких от локализации процесса (в процентах)
Immediate tumor response to lymphochemotherapy of non-small cell lung cancer versus tumor site

Сторона поражения	Степень регрессии												Итого
Правое легкое Right lung	75	60	0	0	0	70	90	30	70	70	0	0	465
Левое легкое Left lung	95	90	10	60	50	60	70	35	75	75	35	50	705
Tumor site	Percentage of regression												Total percentage

manifestation of the effect observed experimentally.

Conclusions. 1. The developed methods of lymphochemotherapy (ALCT, ALCT+CFLCT) of advanced non-small cell lung cancer undertaken in combination with chemotherapy by VAM, CAF, CAM show certain immediate antitumor effect (61% partial response, no progressive disease).

2. Analysis of treatment of 26 patients by ALCT, ALCT+CFLCT discovered higher sensitivity of left side tumors which probably is a reflection of a presumed mechanism of the effect based on peculiar interaction of antitumor drugs with activated cells of the central lymph.

3. ALCT leads to compensatory increase in percentage of T-cells and their subpopulations, cells expressing line-unlimited markers and activated cytotoxic cells to the normal level (T-lymphocytes and cells with line-unlimited markers) and even higher (activated/cytotoxic lymphocytes) due to involvement of progenitor cells in the differentiation.

4. NK-cells and cells with a receptor to IL-2 are the most sensitive to the procedure as they show decrease in both absolute number and percentage in the whole lymphocyte population. The reduction of Rc-IL-2⁺ lymphocytes seems to be a positive factor because in the category of patients under study the baseline level of these cells is increased which correlates with disease advance.

5. The developed methods of ALCT and CFLCT seem adequate in tolerance and immediate antitumor effect to requirements established for the drug component of combined treatment for locally advanced non-small cell lung cancer.

опухолей левосторонней локализации, что, возможно, является отражением одного из предполагаемых механизмов реализации эффекта, вытекающего из особенностей взаимодействия противоопухолевых препаратов с активированными клетками центральной лимфы.

3. После проведения АЛХТ относительное содержание Т-клеток и их субпопуляций, клеток, экспрессирующих линией неограниченные маркеры, а также активированных цитотоксических клеток компенсаторно увеличивается и достигает нормы (Т-лимфоциты и клетки с линией-неограниченными маркерами) либо даже превышает их (активированные/цитотоксические лимфоциты), что происходит за счет вовлечения в дифференцировку клеток-предшественников.

4. НК-клетки и клетки, несущие рецептор к IL-2, оказываются наиболее чувствительными к проводимой процедуре, поскольку снижаются как их абсолютное количество, так и доля среди других лимфоцитов. Снижение Рц-IL-2⁺-лимфоцитов следует расценивать, по-видимому, положительно, так как у данной группы больных их количество исходно повышено, что коррелирует с распространенностью процесса.

5. Разработанные методы АЛХТ и ЛХТБК представляются адекватными основным требованиям, предъявляемым лекарственному компоненту комбинированного лечения местно-распространенных форм немелкоклеточного рака легкого с точки зрения как переносимости, так и непосредственного противоопухолевого эффекта.

© Коллектив авторов, 1994
УДК 616-006.487-053.2:575.291

*М.Д. Неведов, О.П. Кириченко, А.Ф. Бровкина,
О.Г. Пантелеева, Ж.Г. Мустафина, Т.С. Телеуова,
Н.А. Ляпунова, Л.А. Дурнов, Р.Ф. Гарькавцева*

АНАЛИЗ ДЕЛЕЦИЙ ГЕНА РЕТИНОБЛАСТОМЫ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ ОПУХОЛИ

Медико-генетический научный центр РАМН, Онкологический научный центр РАМН, Институт глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России, Москва, Казахский НИИ глазных болезней, Алма-Ата

Ретинобластома (RB) редкая злокачественная опухоль сетчатки глаза у детей раннего возраста. Частота возникновения опухоли составляет 1/14—1/34 тыс. новорожденных [6]. Развитие опухоли обусловлено мутациями в гене RB, локализованном в проксимальной части длинного плеча хромосомы 13 (13q14.1). Показана важная роль делеций различной протяженности и локализации, приводящих к развитию опухоли. Примерно у 40% пациентов заболевание генетически детерминировано, т.е. больные являются носителями патологического гена RB. При этом в 30% случаев мутация возникает впервые в половых клетках одного из родителей и лишь в 10% наследова-

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Нормантович В.А., Верховцева А.И., Кирсанова Л.Д., Ратнер О.Н. Аутолимфо- и лейкохимиотерапия рака молочной железы и ряда других локализаций. Новое в решении проблем онкологии. — М., 1990. — С. 65—75.
2. Нормантович В.А., Сидоренко Ю.С. // Способ лечения рака легкого. А.С. 321858 от 02.01.91.
3. Нормантович В.А., Лактионов К.П., Кадагидзе З.Г. и др. // Вестн. ВОНЦ АМН СССР. — 1991. — № 4. — С. 12—14.
4. Противоопухолевая химиотерапия/Под ред. Н.И. Переводчиковой. — М., 1988. — С. 46.
5. Normantovich V.A., Mkhedize D.M., Laktionov K.P., Moroshkin I.B., Portnoi S.M., Kadagidze Z.G. et al // Nonadjuvant lymphochemotherapy of breast cancer advanced types: 4-th International Conference. Adjuvant therapy of breast cancer. — St. Gallen. February 26—29, 1992. — S. 63.

Поступила 30.11.92 / Submitted 30.11

*M.D. Nefedov, O.P. Kirichenko, A.F. Brovkina,
O.G. Panteleyeva, Zh.G. Mustafina, T.S. Teleuova,
N.A. Lyapunova, L.A. Durnov, R.F. Garkavtseva*

ANALYSIS OF RETINOBLASTOMA GENE DELETION IN DIAGNOSIS OF HEREDITARY TUMOR FORMS

Medical Genetical Research Center RAMS, CRC RAMS, Helmholtz Institute of Ocular Diseases of Russian Health Ministry, Moscow, Kazakh Research Institute of Ocular Diseases, Alma-Ata

Retinoblastoma (RB) is a rare malignant tumor of ocular retina in early childhood. Tumor incidence is 1 per 14,000—34,000 newborns [6]. The tumor develops due to mutations in the RB gene located in the proximal region of the chromosome 13 long arm (13q14.1). Deletions of various length and location contribute greatly to development of the tumor. In about 40% of the patients the disease is determined genetically, i.e. the patients have a pathological RB gene. In 30% of the cases the mutations occur in germ cells of one of the parents and in 10% only the tumor inheritance is traced in 2 or 3 generations of the family. In 10% the disease cannot be detected in the parents due to incomplete penetrance.