

УДК 618.15-006.448-073.43

М.А. Чекалова, О.В. Камаева, Е.Е. Махова, А.А. Кузумова

СЛУЧАЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛИ ВЛАГАЛИЩА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контактная информация:

Чекалова Марина Альбертовна, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения амбулаторных методов диагностики и лечения НИИ клинической онкологии

адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; **тел.** +7(903)-199-50-96**e-mail:** ch2me@yandex.ru

Статья поступила 16.10.2009, принята к печати 12.10.2009.

Резюме

Рассмотрен случай специфического поражения влагалища при неходжкинских лимфомах. Применение ультразвуковой томографии дает возможность уточнить диагноз экстранодальной лимфомы и осуществлять мониторинг эффективности лечения.

Ключевые слова: ультразвуковая диагностика, неходжкинские лимфомы, влагалище, эхография.

М.А. Chekalova, O.V. Kamaeva, E.E. Makhova, A.A. Kuzumova

THE ULTRASOUND DIAGNOSIS OF VAGINA TUMORS

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow

Abstract

We have studied the specific damage of vagina in patients with non-Hodgkin lymphoma. Our data indicate that the ultrasound tomography could correct diagnosis of the extranodular lymphoma and predict the efficacy of treatment.

Key words: ultrasound diagnosis, non-Hodgkin lymphoma, vagina, echography.**Введение**

Опухоли вульвы и влагалища имеют немалый удельный вес в числе онкопатологии женских гениталий. Это новообразования, встречающиеся в различные периоды жизни женщины. Так, среди злокачественных опухолей половых органов детского возраста – частота опухолей влагалища 10–15 %, в репродуктивном периоде женщины частота опухолей вульвы и влагалища снижается до 7 %, а во время поздней менопаузы опять возрастает до суммарных 15 % [3]. В России ежегодно диагностируется около 4 000 новых случаев рака вульвы и влагалища, при этом регистрируемая ежегодная смертность от данной патологии – около 1 000 женщин [5]. Преобладающий морфологический вариант (90 %) – плоскоклеточный рак. Прогноз при злокачественных опухолях вульвы и влагалища зависит от морфологического варианта опухоли, стадии заболевания, поражения лимфатических узлов и наличия отдаленных метастазов [2; 14]. В последнее время достигнуты определенные положительные результаты при лечении этой патологии, которые в полной мере зависят от эффективности ранней диагностики.

Однако следует отметить, что возможности различных методов визуализации при диагностике новообразований вульвы и влагалища изучены в настоящее время недостаточно; в связи с чем, на наш взгляд, может быть интересен любой опыт ультразвуковой диагностики указанных заболеваний.

Клиническое наблюдение редкой опухоли влагалища.

Больная К., 1980 г. р., находилась на стационарном лечении в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина с диагнозом «диффузная В-крупноклеточная лимфома с поражением влагалища, распространением на шейку матки; II АЕ стадия». Поступила с жалобами на ацикли-

ческие кровянистые выделения из половых путей. Из *an. morbi*: считает себя больной с марта 2008 г., когда отметила появление ациклических кровянистых выделений из половых путей. При осмотре по месту жительства заподозрена онкологическая патология матки. Обследована в областном онкологическом диспансере, где выявили опухолевый конгломерат в области малого таза неясной этиологии. Произведена биопсия влагалища.

Цитологическое заключение: в полученном материале найденные изменения соответствуют код 8000/3 – новообразование злокачественное. Лимфома? Направлена в поликлинику РОНЦ, где пациентке было проведено комплексное обследование, в результате которого установлен настоящий диагноз (после чего госпитализирована для проведения специфической терапии). Состояние пациентки удовлетворительное. Кожные покровы чистые. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Тоны ритмичные приглушены. АД 110/70 мм.рт.ст. Живот мягкий, безболезненный во всех отделах. Печень у края легочной дуги. Селезенка не увеличена. Периферических отеков нет. Мочеиспускание свободное. На первом этапе обследования проведено ультразвуковое исследование брюшной полости, забрюшинного пространства, внутренних гениталий и периферических лимфатических узлов.

Трансабдоминальная эхография: выявлен бугристый конгломерат неправильной формы, с четкими контурами, расположенный в области малого таза кзади от мочевого пузыря (рис. 1). Первоначально было сложно детализировать отдельно матку и придатки. Однако при тщательном изучении ультразвуковой картины, использовании трансвагинального доступа удалось установить, что стенки влагалища циркулярно, практически на всем протяжении – до 8,5 см неравномерно (до 3,5–4,5 см) утолщены (рис. 2). Анатомическое строение и контуры стенки влагалища сохранены, но структура изменена в сторону снижения эхогенности, большей частью в области слизистого и подслизистого слоев, отмечено увеличение звукопроводимости, отсутствие дополнительных включений и узлов.

Применение ЦДК и ЭД позволило визуализировать патологическую васкуляризацию на всем протяжении указанных изменений (рис. 3). Аналогичные изменения выявлены на ограниченном участке в передней губе шейки матки. Другой патологии при УЗТ внутренних гениталий не обнаружено. Периферические, забрюшинные и внутрибрюшинные лимфатические узлы, печень, селезенка не увеличены, изменений в структуре их не выявлено. Высказано предположение о специфическом поражении влагалища при лимфопролиферативном заболевании.

Пациентка обследована онкогинекологом: передняя стенка влагалища представляет на всем протяжении «булыжную мостовую» за счет экзофитно-эндофитной опухоли. Аналогичное поражение определяется в верхней трети задней и левой боковой стенок влагалища. Мазки, биопсия. Выделения сукровичные. Шейка матки умеренно гиперемирована, слизистая ее не изменена. При пальпации шейка плотная, «бочкообразная». Мазки, биопсия. Тело матки нормальной величины, область придатков без особенностей.

Гистологическое заключение ИГХ (влагалище) с целью верификации диагноза на материале №24652/08 проводилось иммуногистохимическое исследование с использованием антител CD20, CD3, CD23, CD10, Ki-67, рап СК (AE1/AE3), bcl-2, bcl-6. Опухолевые клетки экспрессируют CD20, bcl-6.

При реакции с Ki-67 позитивно около 90 % опухолевых клеток. Опухолевые клетки не экспрессируют CD23, CD10, рапСК(AE1/AE3), bcl-2. При реакции с CD3 позитивны отдельные, дискретно расположенные Т-лимфоциты. Заключение: Морфоиммуногистохимическая картина соответствует диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме с высокой пролиферативной активностью, не фолликулярного происхождения (рис. 4).

Гистологическое заключение (трепанобиопсия подвздошной кости) отломки костной ткани с нормоклеточным костным мозгом. В клеточном составе элементы всех ростков кроветворения.

Миелограмма: пунктат клеточный. Мегакариоциты в достаточном количестве. Состав миелограммы в пределах нормы.

Результаты обследования: общий анализ крови: эритро. $4,36 \times 10^{12}/л$; гем. 12,5 г/дл; лейкоциты $5,04 \times 10^9/л$ (п/я – 2 %, с/я – 66 %, лимф. – 28 %, моно – 2 %, эоз. – 2 %); тр. $317 \times 10^9/л$, СОЭ 80 мм/ч. Биохимический анализ крови: глюкоза – 5,1 ммоль/л; альбумин – 42,1 г/л; креатинин – 93 мкмоль/л; общий белок – 73 г/л; АСТ – 19,4 ед/л; ЛДГ – 329 ед/л. Коагулограмма: АПТВ 28 сек; фибриноген 284 мг/дл; протромбин 95 %; МНО 1,04 ед; протромбиновое время 13,2 сек; РКМФ этанол тест отрицательный; Д-димер 0,12.

ЭГДС: недостаточность розетки кардии. Диффузный поверхностный гастрит. Дуоденит.

ЭКГ: ритм синусовый. ЧСС 73 в мин. Нормальное положение ЭОС.

Рентгенография органов грудной клетки: в легких без очаговых и инфильтративных изменений. Корни и средостение не расширены. Синусы свободны.

В соответствии с установленными стандартами лечения НХЛ пациентке проведено 6 курсов ПХТ по схеме R-CHOP (мабтера 700 мг в день 1; доксорубин 75 мг в день 2; циклофосфан 1200 мг в день 2; винкристин 2 мг в день 2; медрол 64 мг дни 2–6. Без осложнений. С целью защиты функции яичников на время проведения химиотерапии рекомендован золадекс 3,6 мг в клетчатку передней брюшной стенки. Симптоматическая терапия: омез 1к (20 мг) внутрь 1 р/д, аллопуринол 600 мг внутрь 1–6 день внутрь, клексан 0,4 мг п/к. В результате проведенной терапии достигнут положительный эффект в виде уменьшения и исчезновения опухоли (рис. 5 А–Б), что подтверждено клинко-инструментальным и морфологическим обследованием.

Заключение

В доступных литературных источниках [2; 10; 14; 19] сведения о возможности ультразвуковой томографии при лимфоме достаточно ограничены. За последние 25 лет в литературе описано около 60 наблюдений патологии шейки матки, около 200 – в теле матки, встречаются единичные описания изменений влагалища и вульвы. Среди них преобладают В-клеточные формы. В исследовании, проведенном J. Freeman среди 1467 пациенток с экстранодальными проявлениями НХЛ, было выявлено 18 пациенток с поражением молочной железы, лишь три случая – шейки матки и один – влагалища [8; 9; 13].

Неходжкинские лимфомы представляют собой полиморфную группу злокачественных лимфопролиферативных опухолей, различных по морфологическому строению, клиническим проявлениям и прогнозу. В России НХЛ составляют 2,6 % от всех злокачественных опухолей. Смертность от злокачественных лимфом равна 2,3 % от общей онкологической смертности [6; 7]. В практической медицине окончательный диагноз и определение варианта лимфомы устанавливается по биопсийному материалу после гистологического исследования с иммунофенотипированием субстрата [4; 12; 16].

Первичный очаг лимфомы может локализоваться в лимфатических узлах (нодулярное поражение) или в других органах и тканях (экстранодальное поражение). Изменения в отдельных органах могут иметь как диффузный, так и локальный характер. НХЛ, как правило, начинается с появления одиночного опухолевого узла и распространяется путем лимфогенного и/или гематогенного метастазирования. Часто диагноз НХЛ с экстранодальной локализацией устанавливается уже после операции, т.к. подобные очаги манифестируют клинику рака или доброкачественных опухолей пораженных органов [17; 18].

Наиболее распространенной экстранодальной локализацией НХЛ являются органы желудочно-кишечного тракта, которые составляют 10–24 % всех неходжкинских лимфом и 30–45 % от ее экстранодальных форм. В целом, экстранодальные лимфомы, по данным разных исследователей [6; 7; 17], составляют от 24 до 48 % всех НХЛ. Актуальность совершенствования первичных методов диагностики экстранодальных форм неходжкинских лимфом вызвана ежегодным 10 % приростом заболеваемости в развитых странах [6; 7]. Редкость патологии приводит к чисто описательному анализу всех случаев в литературе без выработки четких рекомендаций и определенного диагностического алгоритма-стандарта. Принимая во внимание, что заболевание может развиваться достаточно агрессивно, и клинические проявления его очень разнообразны, перед клиницистом стоит задача быстрого и оптимального выбора диагностических методик для первичного этапа обследования. По мнению ряда авторов, приоритетным методом первичной диагностики НХЛ, включающим определение локализации и распространенности заболевания, является компьютерная томография (КТ) [1; 11; 20].

Однако более доступным является УЗТ, информативность которой при оснащении современными технологиями очень высока. Вместе с тем немаловажен тот факт, что эхография – более экономически выгодный диагностический метод [1; 10, 15]. В связи с чем, на наш взгляд, использование УЗТ при диагностике экстранодальной НХЛ вполне оправдано.

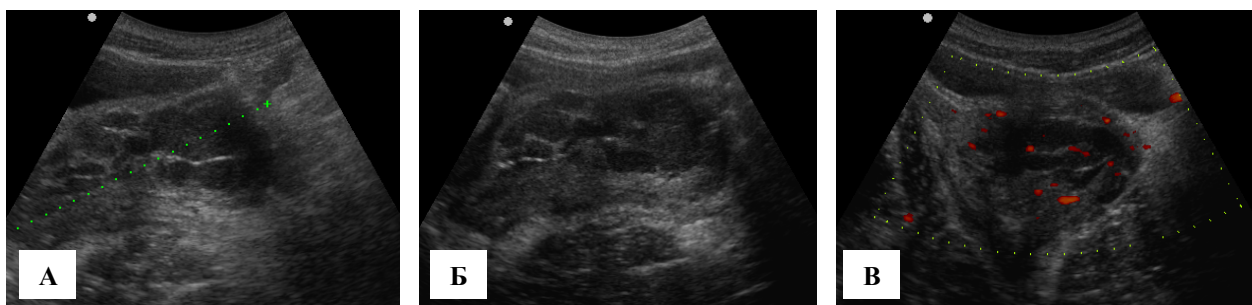


Рис. 1. А–В. Эхограммы больной К. Специфическое поражение влагалища при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Трансабдоминальное исследование в продольной и поперечной плоскости.

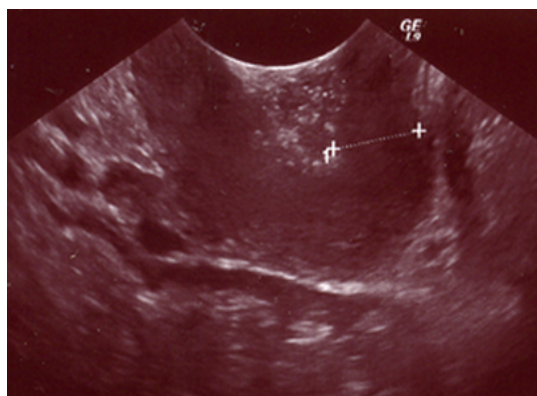


Рис. 2. Эхограмма больной К. Специфическое поражение влагалища при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Трансвагинальное исследование.



Рис. 3. Доплерография. Специфическое поражение влагалища при диффузной В-крупноклеточной лимфоме.

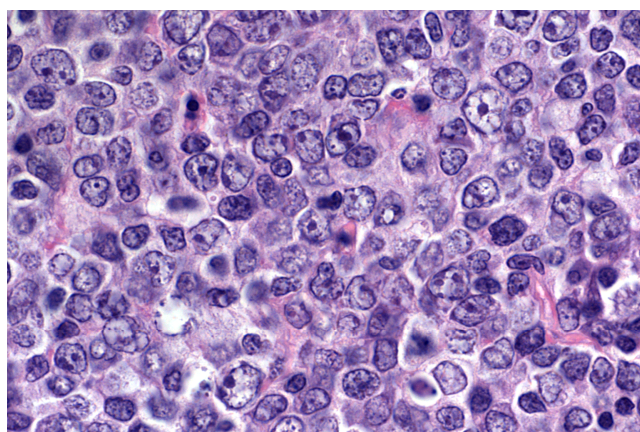


Рис. 4. Диффузная В-клеточная лимфома (микропрепарат).

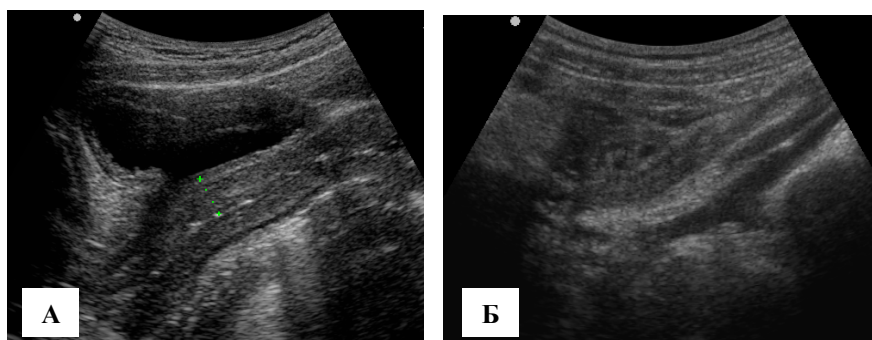


Рис. 5 А–Б. Эхограмма больной К. Специфическое поражение влагалища при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Состояние после 2 курсов полихимиотерапии.

Литература

1. Голеньков А.К., Калужский А.А., Харченко Н.В. Сравнительная оценка эффективности ультразвукового исследования и компьютерной томографии в диагностике неходжкинских лимфом абдоминальной и ретроперитонеальной локализации // Мед. радиол. – 1992. – №3–4. – С. 40–2.
2. Демидов В.Н., Зыкин Б.И. Ультразвуковая диагностика в гинекологии. – М.: Медицина, 1990. – 224 с.
3. Клиническая онкогинекология: Руководство для врачей. Под ред. В.П. Козаченко. – М.: ОАО «Издательство «Медицина»», 2005. – С. 93–100.
4. Кондратьева Т.Т. Цитологическая диагностика злокачественных лимфом // Современная онкология. – 2006. – №1. – С. 4–8.
5. Опухоли женской репродуктивной системы. Под ред. М.И. Давыдова, В.П. Летагина, В.В. Кузнецова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – С. 190–6.
6. Поддубная И.В. Клиническая гематология. Под ред. М.А.Волковой. – М.: «Медицина», 2001. – С.336–75.
7. Поддубная И.В., Балакирева Ю.Н. Клинико-морфологические особенности и факторы прогноза при первичных экстраодальных неходжкинских лимфомах // VIII Российский онкологический конгресс. Москва, 22–24 ноября 2004 г. – С. 165–7.
8. Crawshaw J., Sohaib S.A. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the ovaries: imaging findings // British Journal of Radiology. – 2007. – Vol. 80. – P. 155–8.
9. Freeman C., Berg J.W., Cutler S.J. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas // Cancer. – 1972. – Vol. 29. – P. 252–60.
10. Jahasz B., Kurjak A., Lampe L. et al. Tissue characterisation by transvaginal Color Doppler for the evaluation of gynaecological tumours // Acta Med Hung. – 1990. – Vol. 47(3–4). – P. 149–56.
11. Hawkins R.A., Hoh C., Glaspy J. et al. The role of positron emission tomography in oncology and other whole body applications // Sem Nucl Med. – 1992. – Vol. 22. – P. 268–84.
12. Katz R., Gritsman A. Fine needle aspiration cytology of peripheral T-cell lymphoma // Am J Clin Patbol. – 1989. – Vol. 91. – P. 120–31.
13. Kosari F., Daneshbod Y., Parwaresch R. et al. Lymphomas of the genital tract: a study of 186 cases and review of literature // Am. J. Surg. Pathol. – 2006. – 30(9). – P. 1202–3.
14. Kurjak A., Jurkovic D., Alfirovic Z. et al. Transvaginal Color Doppler Imaging // J Clin Ultrasound. – 1990. – Vol. 18. – P. 227–34.
15. Lago A.S., Robboy S.J. Lymphoma of the Female genital tract – current status // Int. J. Gynaecol. Pathol. – 2006 – Vol. 25. – P. 1–21.
16. Martin H.E., Ellis E.B. Biopsy by puncture and aspiration // Ann Surg. – 1999. – Vol. 92. – P. 169–81.
17. Molina A., Pezner R.D. Non-Hodgkin's lymphoma. In: Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ, Wagman LD, eds. Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. 5th ed. Melville, NY: PRR, Inc; 2000. – P. 583–618.
18. Morris-Stiff G., Cheang P., Key S. et al. Does the surgeon still have a role to play in the diagnosis and management of lymphomas? // World J Surg Oncol. – 2008. Vol. 6. – P. 13.
19. Nakajima Y., Hirai T., Saito M. Contrast – enhanced ultrasonographic imaging of non-Hodgkins lymphoma // Ultrasound in Medicine and Biology. – 2005. – Vol. 32. – P. 283–4.
20. Nihal Uslu Tutara, Esra Ozgula. An unusual cause of obstructive jaundice; computed tomography and ultrasound findings of duodenal non-Hodgkin's lymphoma // European J. Radiology. – 2007. – Vol. 63(2). – P. 69–73.

Е.Н. Кособокова, В.С. Косоруков

Разработка высокоэффективного рефолдинга рекомбинантного ИФН-α-2b человека

Лаборатория транснасепов препаратов РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Актуальность. В настоящее время с применением биотехнологий производят различные лекарственные белки, в т.ч. гормоны, ферменты, антитела и цитокины. Среди последних важное место занимают интерфероны (ИФН), широко используемые в медицинской практике, в частности в терапии онкологических заболеваний.

Для получения рекомбинантных белков используют различные экспрессионные системы. Наиболее популярной является культура клеток *E. coli*. За счет накопления большого объема белка в бактериальной клетке происходит его агрегации в виде нерастворимых телец включения.

В такой форме белок биологически не активен. Для восстановления активности необходимо проведение процедуры рефолдинга. Наши исследования посвящены разработке процессов высокоэффективного рефолдинга рекомбинантного ИФН-α-2b человека в растворе и на аффинной колонке.

Материалы и методы. Для проведения рефолдинга в растворе ИФН-α-2b человека инкубировали в буфере, содержащем L-аргинин при температуре +4 °C в течение ночи. При разработке метода рефолдинга на аффинной колонке использовали технологию градиентной смены буферов.

Результаты. Ранее нами были сконструированы три генетические конструкции ИФН-α-2b человека и выбрана наиболее удачная в отношении эффективности экспрессии в бактериальной культуре и качества очистки при помощи аффинной хроматографии. В настоящем исследовании разработаны оптимальные условия для проведения рефолдинга ИФН-α-2b человека. Оригинальной модификацией метода являлось включение в состав растворов для рефолдинга различных аминокислот. Наилучшие результаты были получены с глицином и аргинином.

Эффективность процесса составила более 70 %. В сравнении с литературными данными наши результаты соответствуют максимальным показателям, полученным при рефолдинге других аналогичных рекомбинантных белков по более сложным методикам. В настоящее время отработывается методика проведения рефолдинга на колонке для аффинной хроматографии. При использовании плавной градиентной смены буферов было получено более 30 % растворимого ИФН. Ожидаемая эффективность данного подхода составляет до 60–70 % целевого белка.

Вывод. Разработанная нами методика высокоэффективна для проведения рефолдинга ИФН-α-2b человека.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ

УДК 616-002.4:615.277.3:616-006.81-091.8

Е.Г. Славина, Х.А. Бигвава, Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, Л.Ф. Морозова, А.И. Черткова,
В.А. Нуртдинова, З.Г. Кадагидзе

МОДИФИКАЦИЯ ФАКТОРОМ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ (ФНО- α) ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО И АПОПТОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВ В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контактная информация:

Славина Елена Григорьевна, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии

адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; тел. +7(495)324-94-14, моб. +7(903)590-10-52

e-mail: elena.slavina@gmail.com

Статья поступила 29.09.2009, принята к печати 20.10.2009.

Резюме

В настоящем исследовании было проведено изучение взаимодействия отечественного рекомбинантного препарата фактора некроза опухоли альфа – Альнорина с противоопухолевыми лекарствами дакарбазином (DTIC), BCNU и ACNU, применяемыми в клинике для лечения злокачественной меланомы, в индукции цитотоксического действия и апоптоза в клетках 6 линий меланом, полученных из опухолей больных.

Показано, что клетки отдельных линий проявляют различную чувствительность к этим лекарствам, и Альнорин усиливает цитотоксичность лекарств. Преимущественно – на резистентных клетках в концентрациях, в которых сам Альнорин не токсичен для клеток. Он также усиливает интенсивность апоптоза, индуцированного DTIC, в резистентных клетках. В этой системе интерфероны- α и - γ не проявили подобной активности.

Ключевые слова: меланома, противоопухолевые лекарства, фактор некроза опухоли, цитотоксичность, апоптоз.

E.G. Slavina, H.A. Biguava, T.N. Zabolina, F.F. Borunova, L.F. Morozova, A.I. Chertkova,
V.A. Nurtudinova, Z.G. Kadagidze

THE INTERACTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF- α) WITH ANTITUMOR DRUGS AT THE INDUCTION OF CYTOTOXICITY AND APOPTOSIS IN THE HUMAN MELANOMA CELLS

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow

Abstract

The interaction of Russian domestic recombinant tumor necrosis factor alfa – Alnorin – with antitumor drugs dacarbazine (DTIC), BCNU and ACNU, using at the clinic for the malignant melanoma treatment, as inducers of apoptosis has been studied in 6 melanoma cell lines derived from patients tumors.

It was demonstrated that the cells originated from different patients show the distinct sensitivity to these drugs and non-toxic Alnorin concentrations enhance drug cytotoxic effect mainly in the resistant cells. This drugs also enhances the intensity of apoptosis, induced by DTIC in resistant cells. Interferons - α and - γ did not show similar activity at the same system.

Key words: melanoma, antitumor drugs, tumor necrosis factor, cytotoxicity, apoptosis.

Введение

Фактор некроза опухолей (ФНО- α) был обнаружен в конце 1970-х гг. как цитокин, продуцируемый клетками иммунной системы и способный подавлять пролиферацию опухолевых клеток и индуцировать регрессию опухолей [4; 8]. В 1984 г. был клонирован ген ФНО, что послужило началом интенсивного изучения этого цитокина, а также привело к созданию его рекомбинантных препаратов. ФНО оказался многофункциональным белком, участвующим как в нормальных физиологических процессах, таких как рост и развитие органов и тканей, так и в патологических, таких как воспаление, опухолевый рост, отторжение трансплантатов, при ревматоидном артрите и при сеп-

тическом шоке [2]. В контроле роста опухолей ФНО может выполнять диаметрально противоположные функции – с одной стороны, индуцировать гибель опухолевых клеток, а с другой – стимулировать пролиферацию и миграцию опухолевых клеток, повышать их выживаемость и усиливать ангиогенез в опухолях [9]. И эта двоякая направленность должна учитываться при попытках клинического применения ФНО.

Хотя ФНО может оказывать цитотоксическое, цитостатическое и иммуномодулирующее действие, его применение в качестве самостоятельного противоопухолевого лекарства очень ограничено из-за, во-первых, множества побочных эффектов и, во-вторых, по причине резистентности многих опухолевых клеток к его цитотоксическому действию.