

видно, повышенная чувствительность к различным агентам, вызывающим дифференцировку, является одной из характерных черт фенотипа клеток с МЛУ.

Такая особенность клеток с МЛУ может объясняться тем, что одни и те же агенты регулируют экспрессию гена (генов) *mdr* и группы генов, отвечающих за разные типы дифференцировки, синтез различных белков. Действительно, было показано, что агенты, индуцирующие дифференцировку, усиливают экспрессию гена *mdr1* [6, 14]. Корреляция между МЛУ и большей степенью дифференцировки различных клеток может свидетельствовать о том, что большие группы генов, включающие ген (гены) *mdr*, ген гемоглобина и некоторые другие, имеют общие механизмы регуляции (например, гомологичные последовательности в регуляторных областях). Нельзя исключить также, что белок МЛУ Р170 сам по себе каким-то способом влияет на регуляцию других генов, в том числе генов, отвечающих за дифференцировку клеток.

Число полученных нами линий как в данном, так и в предыдущем исследовании [5] сравнительно невелико, однако полученные данные позволяют полагать, что из популяций клеток с высокой экспрессией гена *mdr* чаще отбираются более дифференцированные варианты, чем из популяций клеток с низким уровнем экспрессии этого гена. Это предположение заслуживает дальнейшей проверки. Косвенным доводом в пользу этого предположения являются полученные в данной работе результаты, свидетельствующие о том, что если на первых этапах селекции более чувствительными к воздействию индуктора дифференцировки в наших опытах оказались лишь две из четырех сублиний DS-19, то на более высоких уровнях отбора все полученные клеточные линии стали, во-первых, более чувствительными к ДМСО, во-вторых — к его более низким концентрациям, чем исходные клетки DS-19. Вероятно, при дальнейшем повышении уровня устойчивости чаще отбираются клетки, обладающие более дифференцированным фенотипом, чем клетки дикого типа и клетки первого этапа селекции.

Таким образом, результаты данной работы наряду с данными, полученными на клетках почки собаки [5] и результатами исследований, полученными другими авторами [11, 12, 13], свидетельствуют о закономерности отбора более дифференцированных вариантов клеток при отборе на повышенную экспрессию гена *mdr* при развитии МЛУ. Этот факт, на наш взгляд, целесообразно учитывать, рассматривая проблемы химиотерапии опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитов Р. И., Бершадский А. Д., Какпакова Е. С. // Экспер. онкол. — 1989. — № 5. — С. 26—30.
2. Гудков А. В. // Молекул. генетика. — 1987. — № 8. — С. 3—9.
3. Какпакова Е. С. // Бюл. экспер. биол. — 1983. — № 7. — С. 89—92.
4. Нейфах А. А., Александрова А. Ю. // Докл. АН СССР. — 1987. — Т. 291. — С. 989—991.
5. Ставровская А. А., Стромская Т. П., Чернова О. Б., Джураева Ф. Х. // Молекул. генетика. — 1990. — № 5. — С. 3—7.
6. Bates S. E., Mickley L. A., Chen Y.-N. et al. // Molec. cell Biol. — 1989. — Vol. 9, N 10. — P. 4337—4344.

7. Biedler J., Reihm H., Peterson R. H. et al. // J. Nat. Cancer Inst. — 1975. — Vol. 55. — P. 671—680.
8. Bradley G., Juranka P. F., Ling V. // Biochim. biophys. Acta. — 1988. — Vol. 948. — P. 87—128.
9. Fojo A. T., Ueda K., Slamon D. J. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1987. — Vol. 84. — P. 265—269.
10. Goldstein L. J., Galski H., Fojo A. et al. // J. nat. Cancer Inst. — 1989. — Vol. 81. — P. 116—124.
11. Lemontt J. F., Azzaria M., Gros P. // Cancer Res. — 1988. — Vol. 48. — P. 6348—6353.
12. Melloni E., Pontremoli S., Damiani G. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1988. — Vol. 85. — P. 3835—3839.
13. Michaeli J., Lebedev Y. B., Richon V. M. et al. // Molec. cell Biol. — 1990. — Vol. 10. — P. 3535—3540.
14. Mickley L. A., Bates S. E., Richert N. D. et al. // J. Biol. Chem. — 1989. — Vol. 264. — P. 18 031—18 040.
15. Noonan K. F., Beck C., Holzmayer T. A. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87. — P. 7160—7164.
16. Ohta Y., Tanaka M., Terada M. et al. // Ibid. — 1976. — Vol. 73. — P. 1232—1236.
17. Orkin S. H., Haros E. I., Leder P. // Ibid. — 1975. — Vol. 72. — P. 98—102.
18. Paul A., Marks M. // Cancer (Philad.). — 1984. — Vol. 54. — P. 2766—2769.
19. Singer D., Cooper M., Maniatis G. M. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1974. — Vol. 71. — P. 2668—2670.

Поступила 05.03.91

Клинические исследования

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1991

УДК 616-006.6-085:615.37

В. А. Нормантович, К. П. Лактионов, З. Г. Кадагидзе, Е. В. Савельева, А. В. Хлебнов, Т. Н. Заботина, И. В. Высоцкая

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЛИМФЫ ПРИ АДОПТИВНОЙ ИММУНОХИМИОТЕРАПИИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМ РАКА

НИИ клинической онкологии

Разработанный способ аутолимфохимиотерапии (АЛХТ) базируется на воздействии высоких доз химиопрепаратов на собственные лимфоидные клетки, возможности использования для повышения противоопухолевого эффекта.

Известен определенный эффект от активации неиммунных аутологичных лимфоцитов с помощью митогенов — фитогемагглютинаина, конканавалина А. Результаты улучшились при использовании для получения лимфоцитов сепаратора крови, однако клинический эффект был получен лишь при небольших опухолевых узлах [4].

В ВОНЦ АМН СССР удалось достичь значительного улучшения показателей иммунного ответа путем воздействия на аутологичные лимфоидные клетки малыми дозами химиопрепаратов, например метотрексата [3]. Большим со злокачественной меланомой проводили стимуляцию собственных лимфоцитов, полученных с помощью сепаратора крови «Aminko Centrifuge» и активированных *in vitro* малыми дозами метотрексата или фитогемагглютинином [1]. Установлено, что этот вид лечения может быть рекомендован только больным с заболеванием в ранних стадиях после хирургического удаления первичного очага или локальных метастазов для профилактики рецидивов и метастазирования.

Исследования, посвященные изучению эффекта

воздействия относительно высоких («лечебных») доз химиопрепаратов на лимфоидные клетки, а тем более прикладные аспекты полученных результатов, в доступной литературе не освещены.

В клинике разработан и апробирован способ АЛХТ. АЛХТ предусматривает использование собственных лимфоцитов, получаемых путем наружного дренирования грудного протока (НДГП).

Идея воздействия на центральную лимфу привлекает в связи с соотношением субпопуляций лимфоцитов в пользу Т-клеточных форм, удельный вес которых в лимфе (до 80 %) заметно выше, чем в периферической крови. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что отведение лимфы сопровождается репродукцией форменных ее элементов за счет тимусзависимых зон ретикулоэндотелия [2].

Таким образом, реинфузия лимфы служит делу Т-клеточной иммуностимуляции, а предварительная ее обработка относительно высокими дозами химиопрепаратов призвана реализовать известный эффект — внести коррекцию в соотношение субпопуляций лимфоидных клеток путем превалирующего подавления супрессорной активности лимфоцитов.

НДГП выполняли под местной анестезией из общепринятого левого надключичного доступа. Прескаленный фрагмент протока канюлировали хлорвиниловым медицинским катетером с последующим лимфоюгулярным шунтированием. С целью длительного функционирования шунта разработали и использовали приемы, позволяющие при его наложении создать максимальный градиент давления на концах катетера. Центральный его фрагмент выводили через контрапертуры на кожу в виде дуги, соединенной специальным тройником (для забора и реинфузии лимфы). Переносимость вмешательства во всех случаях была удовлетворительной.

Первые 1—2 сут после НДГП выполняли забор 1,5—2,4 л лимфы (2,4—6 млрд лимфоцитов) в 3 специальные стерильные емкости, которые по мере заполнения помещали в холодильник при температуре 4 °С. Синхронно лимфопотере инфузировали адекватные объемы растворов и кровезаменителей. На 3—5-е сутки полученную и выдержанную в холодильнике лимфу смешивали с химиопрепаратами, инкубировали в термостате при температуре 37—38 °С, после чего медленно капельно реинфузировали через тройник лимфovenозного шунта, вовлекая во взаимодействие с лекарственной смесью дополнительные объемы интактной лимфы. АЛХТ занимала 3 дня, в течение которых больному вводили в итоге курсовую дозу химиопрепаратов.

Методом АЛХТ пролечено 15 больных с распространенными формами рака: 7 больных (возраст 32—69 лет) — раком молочной железы; все больные страдали генерализованными формами (с поражением костей скелета 1, плевры 4, легких 1, печени 1, отдаленных лимфоузлов 3, кожи 2, мягких тканей 2 в различных сочетаниях). Из них 1 больная с отечно-инфильтративной формой рака (отек кожи более 50 % поверхности молочной железы) ранее не лечилась. Остальные перенесли длительное (1,5—3,5 года) комбинированное и комплексное лечение, включающее многокурсовую (до 8 курсов) полихимиотерапию, в

том числе 2—3 курса на этапе генерализации. Во всех случаях последние 1—2 курса включали адриамицин (САМФ, VAM, CMFAV) и не сопровождались объективным эффектом (у 3 — стабилизация, у 3 — прогрессирование).

Из них у 4 больных к началу лечения в клинике превалировала легочно-сердечная недостаточность, обусловленная поражением легких и плевры. Общий статус больных по 5-степенной классификации ВОЗ (ECOG) представлены ниже: 0 стадия — 2, I стадия — 1, III — 3, IV — 1 больная.

7 мужчин (45—62 года) страдали центральным немелкоклеточным раком легкого. Из них у 5 были генерализованные формы с поражением костей скелета (3) и печени (1), у 2 — местнораспространенные. Гистотип — плоскоклеточный рак у 6, железистый рак — у 1. Общий статус больных по классификации ВОЗ (ECOG): I стадия — 1, II — 6 больных.

Один больной (28 лет) страдал эмбриональным раком яичка с элементами незрелой тератомы после комбинированного лечения, включающего 17 курсов полихимиотерапии, из них 12 — на этапе генерализации (винбластин, платидиам, блеомицин, блеомицин, тиофосфамид, месна, циклофосфан, дактиномицин, доксорубин, пепломицин, УР16 и другие в различных сочетаниях). На фоне лечения продолжалось прогрессирование с вовлечением брюшинного пространства, легкого, развитием кишечной непроходимости и почечной недостаточности. Общий статус по классификации ВОЗ (ECOG): III стадия.

При раке молочной железы и легкого использовали 3-дневную схему VAM (винкристин — 1—1,5 мг/м² — 1-й день; адриамицин 30 мг/м² — 1—3-й день; метотрексат 20—25 мг/м² — 1—3-й день), VAF (винкристин — 1—1,5 мг/м² — 1-й день; адриамицин 30 мг/м² — 1—3-й день; 5-фторурацил 500—750 мг/м² — 1—2-й день) и САФ (циклофосфан 600 мг/м², адриамицин 30 мг/м², 5-фторурацил 500 мг/м² — 1—3-й день).

В лечении больного раком яичка использовали этопозид и карбоплатин в дозировках, несколько меньше (на 30 %) таковых в одном из предыдущих курсов, оказавшимся неэффективным.

Во время и после АЛХТ гормональные препараты не применяли. Дополнительную терапию проводили в объеме симптоматической.

Лечение больные перенесли удовлетворительно. Наблюдались следующие осложнения: алопеция (15), диспепсия (7), стоматит (1), лейкопения (менее 2 тыс. — 6, менее 1 тыс. — 4), тромбоцитопения (50—150 тыс. — 7). Первые 2—3 дня после завершения АЛХТ число лейкоцитов, как правило, возрастало на 1,5—2 тыс., в последующем падало, достигая нижней точки на 9—12-й день и перерастая в относительный лейкоцитоз к концу 3-й недели.

В 10 наблюдениях лимфovenозный шунт функционировал в течение 2—4 нед после первого курса АЛХТ, в 5 — более 6—8 нед. В этой связи представленные результаты лимфохимиотерапии являются промежуточными и отражают реакцию процесса на первый курс АЛХТ (см. таблицу).

В 14 наблюдениях прослежен отчетливый субъективный, а также объективный эффект (симпто-

Непосредственный эффект АЛХТ распространенных форм рака различной степени химиорезистентности

Форма опухоли, стадия	Число больных	Стабилизация		Частич- ный эффект
		регрессия		
Рак молочной железы	7	Менее 25 %	Менее 50 %	Более 50 %
IV стадия:				
условно резистентная		1	2	
резистентная		1	2	
нелеченая				1
Немелкоклеточный рак лег- кого	7			
IV стадия:				
центральный		3	1	1
III стадия:				
центральный		1		1
Рак яичка				
IV стадия:				
резистентная		1		
Итого...	15	7	5	3

матический эффект в сочетании с объективными показателями регрессии метастазов различных локализаций без признаков прогрессирования со стороны оставшихся очагов).

В 3 наблюдениях минимальной распространенности (плоскоклеточный рак левого легкого с метастазом в правое, центральный плоскоклеточный рак правого легкого T3N2MX, отечно-инфильтративная форма рака молочной железы T4N2M+) достигнута частичная регрессия.

При анализе эффективности АЛХТ рака молочной железы у больных, перенесших многокурсовую химиотерапию, учитывали (из анамнеза) чувствительность процесса к стандартной химиотерапии. Наблюдения разделили по степени резистентности на условно резистентные — отсутствие признаков объективного эффекта в ответ на 1—2 курса полихимиотерапии с адриамицином и резистентные — прогрессирование в ответ на 1 курс и более полихимиотерапии с адриамицином.

У 3 больных с условно резистентными формами объективный эффект выражался в сокращении размеров опухолевых узлов и самой железы, уменьшении ее инфильтрации, отека кожи, уменьшении и стабилизации уровня плеврального экссудата, сокращении размеров региональных и отдаленных лимфоузлов, числа и размеров метастазов в кожу.

У 3 женщин с резистентными формами, находящихся перед началом лечения в состоянии средней тяжести, эффект проявился в купировании болевого синдрома, уменьшении или нивелировании метастазов в кожу, торможении плевральной экссудации, положительной рентгенодинамики со стороны метастазов в легкие. В одном наблюдении синхронного рака обеих молочных желез (слева рецидив на фоне постлучевого фиброза железы T4N1M1LYM по типу «панцирного рака») объективный эффект прослежен не был. Выполнена двухсторонняя мастэктомия. Гистологически: 2-я (слева) и 1-я (справа) степени лечебного патоморфоза.

При АЛХТ немелкоклеточного рака легкого объективный эффект выражался в уменьшении размеров опухолевых очагов, корневых и медиастин-

нальных лимфоузлов, улучшении вентиляции соответствующих отделов легких, а стало быть, и функциональных показателей.

При резистентной форме рака яичка удалось нивелировать картину кишечной непроходимости и почечной недостаточности, уменьшить (в 8 раз) уровень α -фетопротейна в крови (см. таблицу).

Заметно улучшалось и субъективное состояние больных (на 1—2 степени), особенно при раке легких, как впрочем, и метастатическом их поражении за счет улучшения вентиляции и нивелирования вторичных воспалительных реакций.

Проводили определение иммунологического статуса больных до АЛХТ и через 2—3 нед после ее проведения. Экспрессию дифференцировочных антигенов субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD22) определяли в реакции непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител серии ИКО. Реакцию учитывали на проточном цитофлюориметре «FacsScan». Определяли также функциональную активность лимфоцитов в реакции бласттрансформации на фитогемагглютинин и уровень сывороточных Ig.

Оказалось, что эффективная АЛХТ сопровождалась повышением относительного содержания CD3, CD4, CD8, соотношения CD4/CD8, CD22 лимфоцитов; повышалась также и функциональная активность лимфоцитов, изменения содержания сывороточных Ig носили разнонаправленный характер.

Таким образом, разработанный способ может быть отнесен к адоптивной иммунохимиотерапии, поскольку наряду с проведением стандартной химиотерапии в полном ее объеме АЛХТ позволяет достичь позитивных изменений со стороны показателей противоопухолевого иммунитета. Положительные результаты клинического использования АЛХТ при генерализованных формах рака различной степени химиорезистентности позволяют сделать вывод о целесообразности применения подхода в комбинированном и комплексном лечении местнораспространенных форм рака.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трапезников Н. Н., Буачидзе Л. Н., Черноз З. В., Кадагидзе З. Г. // Вопр. онкол.— 1976.— № 3.— С. 6.
2. Петров Р. В. Иммунология.— М., 1989.— С. 96—98.
3. Kadagidze Z. G., Svet-Moldavski G. J. // J. nat. Cancer Inst.— 1971.— Vol. 46.— P. 921.
4. Cheena, Herst, 1979. // Комбинированное и комплексное лечение больных со злокачественными опухолями.— М., 1989.— С. 58.

Поступила 27.07.91

© О. А. СЕДЕЛЬНИКОВА, 1991

УДК 616.006.04-076.5-078.7

О. А. Седельникова

МЕТОД ИММУНОЦИТОХИМИИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ МУЦИНОПОДОБНЫХ АНТИГЕНОВ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

НИИ клинической онкологии

В настоящее время проводится множество работ, посвященных определению антигенного состава опухолей или изучению специфичности новых моноклональных антител (МКАТ) на гистологиче-