

4. Иванников И.О. *Общая гепатология*. — М.: Медпрактика, 2003. — 197 с.
5. Шапошников А. В. // *Рос. журн. гастроэнтер., гепатол. и колопроктол.* — 2005. — Т. 15, № 4. — С. 88–92.
6. Liu Z. X., Kaplowitz N. // *Clin. Liver Dis.* — 2002. — № 6. — P. 755–774.
7. Дегтярєва І.І., Скрипник І.М., Козачок М.М., Куц Т.В. // *Лікарська справа*. — 2004. — № 8. — С. 70–76.
8. Вовк А.Д., Матяш В.І., Архипенко О.В. // *Ліки України*. — 2000. — № 1–2. — С. 10–11.
9. Дегтярєва І. І., Скрипник І. Н., Невоїт А. В. и др. // *Новые мед. технол.* — 2002. — № 6. — С. 18–23.
10. Дроговоз С.М. *Гепатопротекторы — сегодня и завтра в Украине (В помощь врачу, провизору): Метод. указания*. — 2003. — 12 с.
11. Губський Ю.І. *Корекція хімічного ураження печінки*. — К.: Здоров'я, 1989. — 123 с.
12. Дегтярєва І., Козачок М., Куц Т., Осьодло Г. // *Ліки України*. — 2004. — № 6. — С. 100–103.
13. Долина Н.Б., Луняк Н.К., Бабанов А.А., Виноградов Д.В. // *Рос. мед. журн.* — 2007. — № 2. — С. 43–46.
14. Ларионова В.Б., Рябухина Ю.Е., Косухина Н.В. // *Онкол.* — 2006. — № 2. — С. 2–4.

Н.Г. Семікоз, О.В. Кайряк, Н.Ю. Лісовська,
С.Д. Васильєв, М.Л. Тараненко

*Донецький національний медичний
університет ім. М. Горького*

Кореляція клінічної ефективності лікування з показниками апоптозу й імунного статусу у хворих на колоректальний рак та з метастазами в печінку

Correlation of clinical efficacy of treatment and with the parameters of apoptosis and immune state in patients with colorectal cancer and liver metastases

Summary. The patients with colorectal cancer with liver metastases with favorable prognosis had lower titers of antibodies to extracellular one-thread serum DNA. Lower frequency of peripheral leukocyte affinity to the liver metastases is observed. Correlation of the presence of one-thread DNA fragments in the peripheral lymphocytes and complete tumor regression is observed.

Key words: colorectal cancer with liver metastases, tumor-associated immunity, DNA electrophoresis.

Резюме. У больных колоректальным раком с метастазами в печень с благоприятным прогнозом зарегистрированы более низкие титры антител к внеклеточной однонитевой ДНК сыворотки. Наблюдается более низкая частота аффинитета лейкоцитов периферической крови к имеющимся метастазам в печень. Отмечена корреляция между наличием однонитевых фрагментов ДНК в лимфоцитах периферической крови и полной регрессией опухоли.

Ключевые слова: колоректальный рак с метастазами в печень, опухолеассоциативный иммунитет, ДНК электрофорез.

Ключові слова: колоректальний рак з метастазами в печінку, пухлиноасоційований імунітет, ДНК електрофорез.

Проблеми, пов'язані з лікуванням колоректального раку (КР), є актуальними для сучасної клінічної медицини, оскільки КР займає вагомe місце в структурі загальної онкологічної захворюваності. Відзначається досить високий відсоток хворих, які звернулися по

медичну допомогу в IV стадії захворювання, зокрема — з метастазами в печінку. Разом з тим, рівні показників виживання відрізняються у хворих з ідентичними клінічними характеристиками та однаковим обсягом виконаного лікування. Цей відомий факт стимулює пошук загальнобіологічних і молекулярно-генетичних факторів, які впливають на перебіг захворювання та прогноз при захворюванні на КР. Основна маса таких досліджень присвячена вивченню молекулярно-генетичних маркерів безпосередньо в первинній пухлині і регіонарних лімфовузлах. Даний підхід обмежений неможливістю одержати операційний і біопсійний матеріал в усіх захворілих. З огляду на те, що пухлинна хвороба є системним феноменом, необхідним є інший діагностичний підхід, оскільки саме точність діагностики поширеності пухлинного процесу визначає адекватність лікувальної тактики. Fidler висловив гіпотезу, що імунна система за наявності клінічно розвиненої пухлини виконує не імунний нагляд, а допускає пухлинний ріст і сприяє прогресуванню пухлинної хвороби. Якщо дане припущення прийняти за аксіому, то лімфоцити є ймовірним об'єктом для тестування імунологічних і генетичних особливостей, які визначають перебіг та прогноз захворювання у даного хворого.

До даного дослідження були включені 34 хворих на КР з метастазами в печінку, які одержували хемотерапію у Донецькому протипухлинному центрі.

За планом комбінованого лікування 15 пацієнтам були виконані паліативні оперативні втручання в радикальному обсязі з подальшою хіміотерапією 5-фторурацилом, інші 19 осіб одержували тільки хемотерапію. Всім пацієнтам призначали 5-фторурацил шляхом 5–6-годинних ендолімфатичних інфузій. Хворим проведено від 3 до 11 курсів хемотерапії залежно від клінічної ефективності. Безпосередній ефект лікування оцінювали за критеріями ВООЗ.

Для виявлення взаємозв'язку між генетичними особливостями організму пухлиноносія й ефективністю подальшої хемотерапії проведена оцінка здатності лімфоцитів периферичної крові до апоптозу за реєстрацією однострощових фрагментів ДНК у гелелектрофорезі.

Кров для дослідження забирали з літрової вени. Мононуклеарну фракцію лейкоцитів крові виділяли загальноприйнятим методом за Воупт. Виділені мононуклеари лізували буфером, який містить 20 мМ ЕДТА, 50 мМ Tris-HCl pH 7,5. Надосадову рідину послідовно обробляли SDS (1%), 5М калію ацетатом; витримували на холоді 15 хв. Із супернатантом двічі проводили хлороформну екстракцію, забираючи водну фазу. Потім до останньої додавали ізопропанол до утворення осаду. Осад, який містить ДНК, кілька разів послідовно промивали 70%-вим етанолом. Після центрифугування осаду ДНК розчиняли в 100 мкл ТЕ-буфера. В електрофорезну камеру вміщували 1,8%-й агарозний гель, у лунки якого вносили ДНК, виділену з 10⁶ клітин. До камери заливали буфер і проводили електрофорез. Для візуа-

лізації фрагментів ДНК гель забарвлювали бромистим етидієм і акридиновим оранжевим, що дозволяє диференціювати одониткові фрагменти ДНК від двониткових. Фотозйомку гелів проводили в ультрафіолетових променях.

Для оцінки пухлиноасоційованого імунітету у хворих на КР з метастазами в печінку ми використовували тест пригнічення адгезії лейкоцитів. На основі цього методу ми розробили спосіб доклінічної діагностики органоспецифічних мікрометастазів злоякісної пухлини людини (Патент України № 17815 А від 31.10.1997, бюл. № 5). До початку першого курсу хемотерапії визначали афінитет лейкоцитів периферичної крові обстежуваних до антигенів алогенних метастатичних пухлин печінки.

У сироватці визначали антитіла до одониткової (формалінізованої) ліофілізованої ДНК сперми лосося в реакції непрямой гемаглютинації за стандартною методикою.

Ретроспективно, залежно від ефективності лікування, були виділені 3 групи хворих: першу склали особи з прогресуванням процесу, другу — зі стабілізацією, третю — з повною і частковою регресією пухлини.

Аналіз клінічних ознак у сформованих групах залежно від ефективності проведеного лікування не виявив вірогідних розбіжностей за статтю, віком хворих, локалізацією та гістологічною структурою.

Безпосередня ефективність хемотерапії корелювала з віддаленими результатами лікування. Середня тривалість життя у хворих із прогресуванням процесу — $4,75 \pm 1,65$ міс., у хворих зі стабілізацією процесу — $17,41 \pm 6,08$ міс., у групі хворих з повною і частковою регресією — $35,25 \pm 3,86$ міс. Розбіжності між величинами показників статистично вірогідні.

Час до прогресування у хворих зі стабілізацією процесу склав $11,30 \pm 5,43$ міс., з повною і частковою регресією — $17,0 \pm 6,87$. Розбіжності між величинами цих показників невірогідні.

Ураховуючи важливість апоптозу як загальнобіологічного феномену в розвитку пухлини й реалізації ефекту протипухлинної терапії, було вивчено наявність одониткової ДНК — інтегрального маркера апоптозу у лімфоцитах периферичної крові у хворих на КР. У всіх хворих з повною регресією зареєстровані одониткові фрагменти ДНК, виділеної з лімфоцитів периферичної крові. В інших дослідних групах дана ознака була відсутня. Розбіжності між групами вірогідні ($p < 0,001$).

При дослідженні афінитету лейкоцитів периферичної крові до антигенів алогенної метастатичної пухлини печінки в LAI-тесті частота позитивних реакцій вірогідно вища: у хворих із прогресуванням процесу реєструвалася у 100 % випадків.

Найменша частість позитивних реакцій до вищезазначеного антигену відзначалася у хворих з регресією пухлини (50 %). Хворі зі стабілізацією процесу займали, за рівнем цього показника, проміжне положення (80 %).

За даними літератури, реєстрація антитіл до ДНК у сироватці крові онкохворих є важливим прогностичним фактором і корелює з активністю й розповсюдженням процесу. У даному дослідженні зареєстровані антитіла до одониткової ДНК у групі хворих із прогресуванням процесу в титрах 1:512 — 1:32 у 77,78 % випадків, в осіб зі стабілізацією процесу й регресією пухлини титри антитіл до одониткової ДНК у 100 % випадків не перевищували 1:4. Різниця статистично вірогідна.

Таким чином, у хворих на КР з метастазами в печінку зі сприятливим прогнозом зареєстровані, по-перше, нижчі титри антитіл до позаклітинної одониткової ДНК сироватки. По-друге, спостерігається більш низька частість афінитету лейкоцитів периферичної крові до наявних метастазів у печінку. По-третє, відзначено кореляцію між наявністю одониткових фрагментів ДНК у лімфоцитах периферичної крові у хворих на КР з метастазами в печінку та повною регресією пухлини. Очевидно, що більш високі титри антитіл до одониткової ДНК є відображенням її первинно вищої концентрації в сироватці. Можливо, це пов'язане також з недостатньою активністю екзонуклеаз і третього компонента комплексу, які утилізують позаклітинну ДНК. Джерела екстрацелюлярної ДНК можуть бути різними. На думку Gilbert J. Fournie et al., 1995 [1], рівень нуклеїнових кислот у плазмі крові хворих на рак легені є «маркером загибелі пухлинних клітин» в організмі пухлиноносія і більша частина ДНК у плазмі представлена ДНК пухлинної природи. A. Font et al., 2001 [2] вважають, що детекція екстрацелюлярної ДНК є маркером циркулюючих мікрометастазів. Експериментальні дані останніх років спростовують загальноприйнятну раніше думку про інертність ДНК як антигену. ДНК здатна активувати макрофаги, В-лімфоцити безпосередньо і натуральні кілери, Т-лімфоцити, як гаптени, з білком-носієм [3]. З іншого боку, відомий факт трансформації нормальних клітин пухлинної ДНК [4]. Можливо, позаклітинна ДНК пухлинної природи здатна трансформувати лімфоцити й запускати новий виток пухлинної прогресії. З таким припущенням узгоджуються дані про афінність лейкоцитів до пухлинних антигенів, отримані в даній роботі.

За даними Wong C.W. et al. [5], ступінь пухлинної прогресії зворотно пропорційний здатності клітин пухлини до апоптозу, оскільки при збереженні в індивідуума генетичної програми апоптотичної загибелі пухлинні клітини, які переносяться струмом крові або лімфи, гинуть «на шляху» і не є джерелом розвитку метастазів. Це припущення правомірне і стосовно лімфоцитів, трансформованих ДНК пухлинної природи. У випадку збереження здатності лімфоцитів до апоптозу, що проявляється появою одониткової ДНК у клітинах, вони гинуть і своєю смертю розмикають замкнуте коло пухлинної прогресії.

Література

1. Fournie G.J., Courtin J.P., Laval F. // *Cancer letters.* – 1995. – Vol. 91. – P. 221–227.

2. Font A., Tarol M., Ramirez J.L. et al. // *Eur. J. of Cancer.* – 2001. – Vol. 37. – P. 222.
3. Рыкова Е.Ю., Лактионов П.П., Власов В.В. // *Успехи совр. биол.* — 2001. — № 2. — С. 160–171.
4. Хесин Р.Б. *Непостоянство генома.* — М.: Наука, 1985. — 472 с.
5. Wong C.W., Lee A., Shientag L. // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 1. — P. 333–338.

Н.Г. Семікоз, А.В. Пономарьова,
Т.В. Карпушина, Н.Г. Куква

*Донецький національний медичний
університет ім. М.Горького,*

*Комунальний клінічний
лікувально-профілактичний заклад
«Донецький обласний протипухлинний центр»*

Варіанти комбінованого лікування неоперабельних пухлин шийки матки Combined treatment for inoperable cervical cancer

Summary. Endolymphatic chemotherapy with antibacterial therapy at initial stages of treatment for inoperable cervical cancer and tumor decomposition improves the conditions for radiation therapy, prolongs relapse-free period, reduces the incidence of radiation complications.

Key words: cervical cancer, multimodality radiotherapy, chemoradiation therapy.

Резюме. Эндолимфатическая химиотерапия с антибактериальной терапией на первых этапах лечения у пациенток с неоперабельным раком шейки матки, распадом опухоли улучшает условия для проведения лучевой терапии, продлевает безрецидивный период, снижает частоту лучевых осложнений.

Ключевые слова: рак шейки матки, сочетанно-лучевая терапия, химиолучевая терапия.

Ключові слова: рак шийки матки, поєднано-променева терапія, хемопроменева терапія.

У структурі гінекологічних новоутворів рак шийки матки (РШМ) посідає перше місце в країнах, що розвиваються, і третє — в економічно розвинутих (після раку тіла матки та яєчників) [1].

Водночас РШМ залишається найпоширенішою пухлиною у жінок. Розробка раціональних підходів до терапії таких хворих продовжує залишатися складною проблемою сучасної онкології [2].

На цей час основними методами лікування РШМ є хірургічний і променевий, роль хемотерапії при даній локалізації вивчена менш повно. Її застосовують у хворих з метастазами у тазові і періаортальні лімфатичні вузли, що мають мало шансів на вилікування стандартними методами. Крім того, хемотерапія може відігравати роль сенсibiliзатора при використанні в комбінації з променевою терапією (ПТ). У провідних онкологічних центрах вже є клінічний досвід хемопроменевого лікування хворих з первинно нерезектабельними пухлинами шийки матки [3, 4].

Вибір методу лікування РШМ залежить насамперед від стадії захворювання, хоча, на думку спеціалістів, переваг у комбінованого методу безперечно більше. А особливо в тих випадках, коли йдеться про задавлені стадії захворювання (РШМ Т2В-Т4).

У зв'язку зі збільшенням кількості пацієнок з неоперабельним РШМ розробляються нові методики про-

меневого і хемопроменевого лікування. При цьому, як показують дослідження, при застосуванні останнього вдається досягти більш вираженого лікувального ефекту. Методики хемопроменевого лікування удосконалюються з появою нових цитостатичних препаратів і нового обладнання для проведення комбінованої ПТ. Радіоактивна і цитостатична дія доповнюють одна одну, тим самим підвищуючи ефект лікування.

Розробка раціональних методик опромінювання в комбінації з цитостатичною терапією є одним з перспективних напрямків сучасної онкології [5].

Метою нашого дослідження стало удосконалення методики хемопроменевої терапії хворих з первинно неоперабельним РШМ з наявністю розпаду новоутвору. При цьому пацієнткам зі стадією ІІВ та розпадом пухлини спочатку проводять 2 курси хемо-, антибактеріальної терапії, а потім курс поєднаного променевого лікування.

Нами було вивчено 2 групи пацієнок з діагнозом: РШМ ІІВ ст., з розпадом пухлини, які пройшли курс лікування в Донецькому обласному протипухлинному центрі (ДОПЦ).

Вік пацієнок склав 25–76 років (середній вік $50 \pm 0,5$ року).

До 1-ї групи увійшли 85 жінок, які одержали поєднану ПТ, згідно зі стандартним методом лікування, до 2-ї — 91, яким проводили хемопроменеве лікування, (2 курси хемотерапії з наступною поєднаною ПТ).

При госпіталізації у жінок обох дослідних груп відзначено явища різного ступеня кровотечі зі статевих шляхів, розпад пухлини шийки матки з некротичними виділеннями. Діагноз верифікований морфологічно.

Поєднану ПТ пацієнткам обох груп проводили за ідентичною методикою, із застосуванням симптоматичної супровідної терапії, зокрема протизапальної, з профілактичними заходами для запобігання променевим ускладненням.

Жінкам з 1-ї дослідної групи проводили поєднану ПТ за два етапи, дистанційне опромінення — з допомогою апаратів Тератрон та Лінійний прискорювач, РОД — 2,5 Гр, до СОД — 50 Гр, за два етапи, внутріпорожнинне опромінення на апараті АГАТ-ВУ з РОД — 10 Гр, до СОД — 50 Гр. На першому етапі СОД — 30 Гр дистанційної ПТ і до СОД — 20 Гр внутріпорожнинного опромінення з подальшим підведенням вказаних сумарних доз через 3 тижні.

Пацієнткам 2-ї дослідної групи проводили два курси ПХТ, перед здійсненням променевої терапії, за схемою: цисплатин — 75 мг/м² в/в краплинно з гідратацією у перший день; фторурацил — 500 мг/м² е/л з 1-го по 5-й день.

Пацієнткам також проводили антибіотикотерапію е/л, частіше використовували цефазолін або цефтріаксон по 1 г протягом 5 днів, паралельно з першим курсом хемотерапії.

Інтервал між курсами ПХТ складав 3 тижні.

При огляді пацієнок 1-ї контрольної групи після проведення етапу ПТ явище розпаду пухлини малою мірою зберігалось в 12 % пацієнок, досягнуто змен-