

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СУБТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ДОЗ МЕТОТРЕКСАТА, ВВЕДЕННЫХ ЭНДОЛИМФАТИЧЕСКИ

Розенко Л. Я., Франциянц Е. М., Джабаров Ф. Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Россия (344037, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63), e-mail: rnioi@list.ru

Проведен анализ в 3-х сопоставимых группах больных раком шейки матки Т3NхMo. Контрольная группа (29 человек) получала стандартную сочетанную лучевую терапию. 37 больным перед облучением в регионарные лимфатические сосуды вводилось дважды с интервалом в неделю по 25±5мг метотрексата и по 2000±400 мг циклофосфана. 29 женщинам эндолимфатически вводилось только по 5 мг метотрексата. Общий контролируемый регрессионный эффект за первые 2 недели лечения был равнозначный, соответственно – 51,7 ; 70,3 и 65,5 % случаев. Отдаленная 5-ти летняя выживаемость при использовании субтерапевтических доз метотрексата оказалась существенно выше по сравнению с контролем 68,4±6,7 % против 48,3±7,1 % (p<0,05) и равнозначной 62,8±6,8 % при эндолимфатическом введении больших доз цитостатиков. Механизм противоопухолевого эффекта субтерапевтических доз цитостатиков, введенных в лимфопути, требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: рак шейки матки, эндолимфатическое введение, субтерапевтические дозы метотрексата.

CLINICAL EVALUATION OF ANTI-TUMOR EFFICACY SUBTHERAPEUTIC DOSES OF METHOTREXATE, ENDOLYMPHATIC IMPOSED

Rozenko L. Y., Frantsiyants E. M., Dzhabarov F. R.

Federal State Institution "Rostov Cancer Research Institute" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russia (344037, Rostov-on-Don, street 14 linia, 63), e-mail: rnioi@list.ru

The analysis of a 3 comparable groups of patients with cervical cancer T3NхMo. The control group (29 people) received a standard combined radiotherapy. 37 patients before exposure to regional lymph vessels entered twice at weekly intervals for 25 ± 5 mg methotrexate and 2000 ± 400 mg cyclophosphamide. 29 women endolymphatic introduced only 5 mg of methotrexate. The total effect of controlled regression in the first 2 weeks of treatment was equivalent, respectively – 51,7; 70,3 and 65,5% of cases. Remote 5-year survival with subtherapeutic doses of methotrexate was significantly higher compared with the control 68,4 ± 6,7% vs 48,3 ± 7,1% (p <0,05) and equivalent to 62,8 ± 6,8% in the endolymphatic high doses of cytostatics. Mechanism of anti-tumor effect of subtherapeutic doses of cytostatic agents imposed lymph path, requires further examination.

Keywords: cervical cancer, endolymphatic introduction, subtherapeutic doses of methotrexate.

Введение

Патофизиологическую целесообразность воздействия на злокачественные процессы через лимфатическую систему доказывает его универсальность. Эффект от лечения обнаруживается при многих локализациях рака, в том числе и резистентных к цитостатикам, к какому относится рак шейки матки [6,3]. В эндолимфатической полихимиотерапии (ЭПХТ) с возможностью одномоментного введения в лимфососуды более чем курсовых доз цитостатиков нашел реализацию известный постулат о прямой зависимости противоопухолевого эффекта химиотерапии от дозы введенного препарата [4].

Вместе с тем на экспериментальных моделях опухолей было продемонстрировано, что в режиме монотерапии цитостатиками в сверхнизких дозах, а также при их сочетании с химиосенсибилизаторами, также в сверхнизких дозах, удается получить значительный про-

тивоопухолевый и противометастатический эффект [1].

Была обнаружена способность доксорубицина, адриамицина, циклофосфана, нитрозометилмочевины оказывать в дозах 10^{-5} - 10^{-20} М противоопухолевый эффект, сопоставимый с активностью препаратов в стандартных дозах 10^{-2} - 10^{-3} М [5].

Клинические возможности малых доз цитостатиков, введенных в лимфатические коллекторы, в плане химиолучевого лечения рака шейки матки практически не изучены.

Цель исследования: исследовать противоопухолевую эффективность эндолимфатической химиотерапии малыми дозами метотрексата при сочетанном лучевом лечении рака шейки матки.

Материал и методы исследования. Основным методом лечения для 95 больных с морфологически верифицированным раком шейки матки Т3NxMo стадии являлась идентичная в методическом отношении традиционная сочетанная лучевая терапия (СЛТ). 37 больным I группы до начала СЛТ в лимфатические сосуды нижних конечностей дважды с интервалом в 7 дней вводились большие дозы химиопрепаратов: смесь по 25 ± 5 мг ($0,36 \pm 0,05$ мг/м²) метотрексата и 2000 ± 400 мг ($28,6 \pm 3,9$ мг/м²) циклофосфана. 29 женщинам II группы в лимфопути вводилось только по 5 мг ($0,07$ мг/м²) метотрексата (МТ). Контрольной III группе – 29 человек – проводилась только СЛТ. После любого варианта эндолимфатической предлучевой подготовки (ЭПП) дистанционная гамматерапия (ДГТ) начиналась через 7–10 дней от последнего введения любых лекарственных агентов. По возрасту, характеру роста опухоли, вариантам распространения процесса и другим клиническим параметрам анализируемые группы больных были сопоставимы. Средний возраст больных – $50,1 \pm 1,8$ лет. Экзофитный, эндофитный, смешанный и с формированием кратера характер роста опухоли выявлен у 32,4; 17,2; 27,6 и у 17,2 % больных I группы. Соответственно у 41,3; 17,2; 21,0; и 20,6 % пациенток 2 группы и в 37,9; 17,2; 27,6 и 17,2 % случаях в группе контроля. Двухсторонняя инфильтрация параметральной клетчатки имела место у 64,8 %; 68,9 % и у 44,8 % женщин соответственно I, II и III групп наблюдения. Плоскоклеточный рак с ороговением и без ороговения установлен соответственно по группам в 86,5; 82,7 и 86,2 % случаях. Клиническая объективизация степени распространенности процесса и регрессия опухоли в течение первых 2-х недель любого противоопухолевого воздействия осуществлялась с помощью традиционных методов обследования (бимануальный осмотр, УЗИ трансвагинальными и абдоминальными датчиками, СРКТ и др.). Дополнительно использовались специальные устройства для измерения общих объемов опухолевого поражения с оценкой степени подвижности тазового дна (АС №1235521, АС № 5068087). Оценку субпопуляционного состава проводили непрямым иммунофлуоресцентным методом [8] с использованием моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Москва) к рецепторам CD4+ (Т-хелперы/индукторы), CD8+ (Т-супрессоры), CD16+

(НК-клетки), рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ или CD4+/CD8+). Функциональную активность лимфоцитов оценивали в реакции бласттрансформации (РБТЛ) с Т-митогенами (ФГА в дозе 5мкг/мл и КонА в дозе 2 мкг/мл) и В-митогеном – липосахаридом (ЛПС 25 ЕД/мл) [2]. Морфологические исследования проводили со стандартной фиксацией материала. Использовались окраски гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Аргирофильные волокна импрегнировались серебром по методу Донскова в модификации Гаевской. Проводили традиционное изучение митотической активности опухоли и ее изменение под влиянием лечения. При статистической обработке результатов вычисляли значение средней величины и стандартную ошибку показателя средней. Достоверность разницы между значениями определяли по методу Стьюдента – Вилкоксона – Манна – Уитни. Использовались критерии χ^2 и ϕ -преобразования. Нижним порогом достоверности считался уровень 0,05.

Результаты исследования. При оценке субъективных жалоб отмечено, что больные II группы после введения малых доз МТ не дали никакой общетоксической или местной реакции на лимфоинфузию, в отличие от больных I группы с использованием больших доз смесей цитостатиков. Здесь у 11 из 37 (29,7 %) больных в первые сутки лечения имела место тошнота и 1–2 кратная рвота. Тошнота, головная боль, слабость первые 7–10 дней беспокоили и 8 из 29 (27,6 %) больных контрольной группы.

Снижение интенсивности болевого синдрома имело место у 11 из 29 (37,9 %) больных III группы в среднем через неделю от начала наружного облучения. В основных группах боли внизу живота прекратились на 2 сутки после любого варианта ЭПП у 55 из 66 (83,3 % – $p < 0,05$) больных.

Клинический контролируемый регрессионный эффект оценивался через 2 недели от начала лечения. К этому сроку пациентки с ЭПП получали по 2 лимфоинфузии различных лекарственных агентов, а женщины III группы суммарную очаговую дозу в точке А от ДГТ равную 20 Гр. (табл 1). На этом промежуточном двухнедельном этапе лечения случаев полной регрессии с резорбцией всего объема опухолевого поражения или прогрессирования по вполне понятным причинам обнаружено не было. Зарегистрирована только частичная регрессия опухоли.

Таблица 1

Противоопухолевая эффективность за первые 2 недели от начала лечения

Группы	Вариант подготовки	Число больных	Регрессия опухоли $\geq 50\%$ абс.ч. (%)	Стабилизация процесса		Общий эффект $25 - \geq 50\%$ абс. (%)
				на 25–<50 %	на <25 %	
				абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)
I	ЭПХТ	37	13 (35,1)	13 (35,1)	11 (29,7)	26 (70,3)

	регионарно					
II	МТ регионарно	29	11 (37,9)	8 (27,6)	10 (34,5)	19 (65,5)
III	Лучевое лечение ДГТ 20 Гр	29	6 (20,7)	9 (31,0)	14 (48,3)	15 (51,7)

При анализе данных таблицы 1 обращает на себя внимание примерное равенство первичного противоопухолевого эффекта после ЭПП малой дозой метотрексата и ЭПХТ. Первичная регрессия опухоли на $\geq 50\%$ от исхода в I и II группах зафиксирована, соответственно, у 35,1 и 37,9 % больных после ЭПП. Подобный эффект в контрольной группе имел место только в 20,7 % случаях наблюдения после 20 Гр ДГТ. Общий регрессионный эффект, в среднем, в группах с ЭПП оказался несущественно, но на 16,5 % выше, чем контроле после ДГТ в дозе 20 Гр, который соответственно по группам зарегистрирован – у 45 из 66 (68,2 %) и 15 из 29 (51,7 %) женщин.

Установлено, что возраст больных, срок клинической симптоматики, исходный объем опухоли и гистоструктура опухоли не имели значения для степени выраженности регрессии опухоли в течение первых 2 недель лечения. В качестве неблагоприятных для проявления клинической эффективности выделены – эндифитный характер роста опухоли и двухсторонняя инфильтрация параметральной клетчатки.

Анализ показал, что в контроле при отмеченном клиническом эффекте после дозы в 20 Гр достоверно, в 2,5 раза против фоновых данных, увеличивается число дистрофически измененных опухолевых клеток. Их уровень после ЭПП, то есть к моменту начала лучевого лечения, также существенно возрастает в 2 раза (в среднем, по группам $606,9 \pm 92,3\%$ против $308,9 \pm 83,2\%$). Отмечено подавление митотической активности, в среднем, на 47,8 % по основным группам и на 50 % в группе контроля. Индекс повреждения паренхимы опухоли после дозы 20 Гр и после ЭПП составил соответственно 37 % и 41 % при снижении структурного показателя соответственно в 2,4 раза (до 0,8 против 1,95 до лечения) в контроле и в 2,9 раз (до 0,69 против 2,01 до лечения) в основных группах.

Таким образом, эндолимфатическая предлучевая подготовка в течение 2 недель обеспечивает регрессионный эффект, сопоставимый по клиническим данным и количественным объективным параметрам с противоопухолевым влиянием дозы ионизирующего излучения равную 20 Гр.

Индивидуальный анализ по всем группам больных показал, что на этапах СЛТ лейкопении, со снижением общего уровня лейкоцитов ниже $3,0 \times 10^9/\text{л}$, имела место у 9 из 37 (24,3 %) группы с ЭПХТ. У последних в 2-х случаях зарегистрировано падение лейкоцитов ниже $2,0 \times 10^9/\text{л}$. Важно отметить, что у больных в группе с малой дозой МТ на протяжении курса

облучения имели место лишь колебания общего уровня лейкоцитов в пределах исходных значений. В контрольной группе умеренная лейкопения (ниже $3,0 \times 10^9/\text{л}$) отмечена у 6 из 29 (20,6 %) больных.

Анализ иммунологических показателей показал, что независимо от использованного способа лечения местно-распространенного процесса рака шейки матки, происходящие изменения иммунитета касались не столько количественной характеристики, сколько угнетения функциональной активности лимфоидных клеток.

Так, исходный митогенный ответ в РБТЛ на ФГА и ЛПС в контрольной группе ($36,4 \pm 2,5$ и $40,3 \pm 2,6$ %) в конце СЛТ оказался, в среднем, в 1,5 раза и на 27,8 % соответственно ниже показателей нормы и исхода (соответственно $42,5 \pm 1,07$ и $43,3 \pm 1,8$ % и $28,7 \pm 2,4$ и $26,5 \pm 1,8$ % – $p < 0,05$). Содержание СД16+, оставаясь неизменным против данных до лечения ($2,4 \pm 0,23$), сохранилось на уровне в 2 раза ниже нормативных значений.

Известно, что уровень субпопуляций CD4+ и CD8+ косвенно отражает содержание циклических нуклеотидов в клетке, является важным показателем ее функционального состояния и может служить критерием адекватного лечения [7,9].

В конце СЛТ в контрольной группе ИРИ (CD4+/CD8+), незначительно возрастая против исхода, остался существенно ниже нормы ($1,06 \pm 0,01$ против $1,25 \pm 0,05$ – $p < 0,05$). Напротив, в основных группах этот показатель существенно вырос, в среднем, в 1,4 раза против исхода и в конце курса химиолучевого лечения его коэффициент изменения нормы (КИН), в среднем, составил 108 % от нормы.

Начиная с первых этапов ЭПП, выявлено повышение пролиферативной активности: для Т-лимфоцитов в РБТ на ФГА и для В-лимфоцитов на ЛПС. Особенно заметно нормализация функциональной активности лимфоидных клеток имела место при ЭПП малой дозой МТ. Здесь, в конце всего лечения КИН в РБТЛ на ФГА составил 95%, а на ЛПС – 105%, соответственно в 1 группе – 83 и 92%.

Таким образом, преимущества эндолимфатической предлучевой подготовки проявляются в повышении адаптационных возможностей иммунокомпетентных клеток к моменту начала лучевого лечения и в предохранении их мембран от повреждающего действия ионизирующего излучения в процессе дальнейшей сочетанной лучевой терапии.

Непосредственные результаты в сравниваемых группах больных были примерно равными, соответственно 78,4; 72,4 и 68,9 % больных в I, II и III группах завершили весь курс химиолучевого лечения с клиническим выздоровлением.

Окончательный вывод об эффективности сравниваемых вариантов лечения традиционно сделан по 5-летним данным выживаемости больных. В таблице 2 представлены 1,3 и 5-летние результаты выживаемости больных после всего объема проведенного ими лечения.

В целом, 5-летняя выживаемость больных основных групп при осуществлении ЭПП составила $65,6 \pm 6,7$ %. Это оказалось почти на 17 % ($p < 0,1$) выше результатов – $48,3 \pm 7,1$ %, полученных в контрольной группе пациенток при проведении идентичного сочетанного лучевого лечения.

Из анализа данных таблицы 2 очевиден факт, что любой использованный способ ЭПП больным раком шейки матки к лучевому лечению в течение каждого из этапов наблюдения улучшает отдаленные результаты СЛТ, проведенной самостоятельно. Причем, любопытно, что субтерапевтические дозы МТ, введенные в регионарные лимфопути, способствуют увеличению отдаленной выживаемости после лучевой терапии практически в равной степени, как и традиционно используемые ударные дозы смесей цитостатиков. Значимых различий в отдаленной выживаемости больных в этих группах не получено

Таблица 2

Пятилетние результаты сочетанного лучевого лечения в зависимости от варианта эндолимфатической предлучевой подготовки

Группы и варианты подготовки	Число больных	Выживаемость по годам наблюдения в %		
		1 год	3 год	5 год
ЭПХТ+СЛТ регионарно	37	$89,6 \pm 4,8^{\wedge}$	$65,7 \pm 5,2^{\wedge}$	$62,8 \pm 6,8$
МТ регионарно + СЛТ	29	$91,9 \pm 4,9^*$	$72,5 \pm 5,5^*$	$68,4 \pm 6,7^*$
СЛТ (контроль)	29	$78,4 \pm 4,5$	$52,5 \pm 6,0$	$48,3 \pm 7,1$

Примечание: * – достоверно при $p < 0,05$ с группой СЛТ ; \wedge – при $p < 0,1$.

Вместе с тем, рассматривая отдельно каждый из вариантов ЭПП, выявлено преимущество использования субтерапевтической дозы МТ по сравнению с только лучевой терапией $68,4 \pm 6,7$ % против $48,3 \pm 7,1$ % ($p < 0,05$). Медиана выживаемости соответственно по этим группам составила $34,9 \pm 3,4$ и $22,2 \pm 5,2$ ($p < 0,05$) месяца, а в группе с ЭПХТ – $27,5 \pm 3,6$ месяца.

Факт наибольшей частоты смертности больных при раке шейки матки в течение первых 2 лет наблюдения после лечения общеизвестен. Эта закономерность находит свое подтверждение и в контрольной группе. При проведении только СЛТ 13 из 29 (44,8 %) больных погибли в течение 2 последующих лет наблюдения, из них 20,7 % в 1 год. По сравнению с этим использование ЭПП статистически значимо, почти в 2 раза сокращает число смертельных исходов от локорегионарных рецидивов за этот период времени. В основных группах за первые 2 года после лечения умерло 15 из 66 (22,7 % – $p < 0,05$) больных, из них 6 из 66 (9,1 %) в 1 год.

Таким образом, эндолимфатическая подготовка является эффективным способом улучшения результатов СЛТ местно-распространенного рака шейки матки T₃N_xM₀ стадии, существенно снижая смертность от локорегионарных рецидивов за первые 2 года после лечения. По биологическому эффекту эндолимфатическое введение субтерапевтической дозы МТ оказывает равнозначный регрессионный результат массивным дозам смесей цитостатиков. Клинические и объективные морфологические изменения после введения цитостатиков в лимфопути сопоставимы с противоопухолевым влиянием дозы ионизирующего излучения равной 20 Гр. Механизм противоопухолевого эффекта субтерапевтических доз цитостатиков, введенных в лимфопути, требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Коновалова Н. П. Сверхмалые дозы лекарственных препаратов в химиотерапии экспериментальных опухолей // Биол. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Прил. 4. – С. 49-51.
2. Копелян И. И. Разработка микромодификации культивирования клеток крови человека / И. И. Копелян, М. Г. Григорьева // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1972. – № 8. – С. 119-122.
3. Лисовская Н. Ю., Кайряк О. В., Комендант В. В., Лифарь П. В. и др. Опыт использования эндолимфатической полихимиотерапии в комплексном лечении солидных опухолей // Тез. VII съезда онкологов и радиологов стран СНГ, Астана, Респуб. Казахстан, 5–7 сентября 2012 года. – С. 439.
4. Морхов К. Ю., Кузнецов В. В., Лебедев А. И. и др. Современные подходы к лечению рака шейки матки // Онкогинекология. – 2005. – № 1. – С. 16-20.
5. Островская Л. А., Блюхтерова Н. В., Фомина М. М., Рыкова В. А. и др. Возможности использования сверхмалых доз цитостатиков в химиотерапии опухолей // Наука. – 2002. – № 3. – С. 59-62.
6. Сидоренко Ю. С. Эндолимфатическая полихимиотерапия в клинике. – Ростов н/Д., 1998.
7. Тростинская А. Б., Евтюхин А. И., Семиглазов В. Ф. Некоторые показатели иммунитета у больных раком молочной железы, получавших полихимиотерапию в сочетании с гипербарической оксигенацией // Акт. вопросы онкологии: сб. Мат. Междун. симп., 14–17.05.96. – СПб., 1996. – С. 242-243.
8. Фримель Х. Иммунологические методы / Х. Фримель. – М., 1987. – 456 с
9. Von Kleist S., Berling G., Bohle W., Wettwkind C. Immunohistological analysis of lymphocytes subpopulations infiltrating malignant and benign breast lesion: relevance for survival // Patologia. Polska. – 1991. – Vol. 42. – P. 32.

Рецензенты:

Николаева Надежда Владимировна, д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, врач отделения гематологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ, г. Ростов-на-Дону.

Каймакчи Олег Юрьевич, д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.