

# ЕФЕКТИВНІСТЬ ХІМІОТЕРАПІЇ ТА ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ В ПОЄДНАННІ З ЗАСТОСУВАННЯМ ЛОКАЛЬНОГО НИЗЬКОЧАСТОТНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ У НЕОАД'ЮВАНТНОМУ ЛІКУВАННІ ПАЦІЄНТІВ З ПРИВОДУ РАКУ ПРЯМОЇ КИШКИ

В. В. Керничний<sup>2</sup>, А. І. Суходоля<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова,  
<sup>2</sup>Хмельницька обласна лікарня

## EFFICACY OF CHEMOTHERAPY AND RADIATION THERAPY IN CONJUNCTION WITH APPLICATION OF LOCAL LOW-FREQUENCY MAGNET FIELD IN PREOPERATIVE TREATMENT OF PATIENTS, SUFFERING CANCER RECTI

V. V. Kernychnyi<sup>2</sup>, A. I. Sukhodolya<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Vinnitsya National Medical University named after M. I. Pyrogov,  
<sup>2</sup>Khmelnitskyi Regional Hospital

### Реферат

**Мета дослідження.** Порівняння ефективності передопераційної стандартної променевої терапії (ПТ) в поєднанні з хіміотерапією (ХТ) та ХТ і місцевим низькочастотним магнітним полем (МНМП) з подальшим дослідженням проліферативної активності пухлин у хворих на рак прямої кишки (РПК).

**Матеріали і методи.** Обстежені 43 хворих, в тому числі 25 (58,1%) чоловіків та 18 (41,8%) жінок, з приводу клінічно та морфологічно верифікованого РПК II – III стадії (T1–4N0–2M0); віком від 35 до 80 років, у середньому (63,5 ± 9,61) року; стан хворого за індексом Карновські 100 – 50 балів. Неoad'ювантна ПТ (НПТ) проведена всім пацієнтам, в тому числі 20 (контрольна група) та 23 (основна група), сумарна вогнищева доза 20 – 25 Гр (5 Гр щодня протягом 4 – 5 діб). Пацієнти основної групи розподілені на підгрупи. У 7 хворих (підгрупа E1) перед кожним сеансом променевої терапії додатково застосовували метрогіл-гель (25 – 30 мл в мікроклізмі) та фторурацил (500 мг/м<sup>2</sup> внутрішньовенно) та МНМП (30 ± 9) мТл, протягом 18 – 20 хв. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проліферативної активності (рівень Ki-67) біопсійного матеріалу проводили перед і після (через 1 – 2 доби) неoad'ювантного лікування, після чого виконували хірургічне втручання.

**Результати.** До неoad'ювантної терапії рівень Ki-67 у пухлинах хворих контрольної групи становив (29,4 ± 13,9)%, основної – (27,8 ± 9,5)%; після неoad'ювантної терапії рівень Ki-67 у контрольній групі зменшився до (23,5 ± 13,2)%, в підгрупі E1 – до (18,4 ± 8,0)%, у підгрупі E2 – до (12,6 ± 5,3)%.

**Висновок.** При використанні МНМП значно підвищується ефективність неoad'ювантної ХТ з стандартним фракційним опроміненням, метод може бути рекомендований для передопераційних протоколів лікування хворих з приводу РПК.

**Ключові слова:** рак прямої кишки; хіміотерапія; променева терапія; низькочастотне магнітне поле; Ki-67.

### Abstract

**Objective.** Comparison of efficacy of preoperative standard radiation therapy (RT) in conjunction with chemotherapy (CHT) and CHT in combination with local low-frequency magnet field (LLFMF) with further investigation of tumoral proliferative activity in the patients, suffering cancer recti.

**Materials and methods.** There were examined 43 patients, including 25 (58.1%) men and 18 (41.8%) women, for clinically and morphologically verified cancer recti stage III (T1–4N0–2M0); ageing 35 – 80 years old, at average (63.5 ± 9.61) years old; the patient state in accordance to Karnovsky index 100 – 50 points. Preoperative RT was conducted in all patients, including 20 (comparison group) and 23 (main group), a summarized focal dose of 20 – 25 Gy (5 Gy every day during 4 – 5 days). The main group patients were divided on subgroups. In 7 patients (subgroup E1) before every séance of RT a metrogil-gel (25 – 30 ml in microenema) and fluorouracyl (500 mg/m<sup>2</sup> intravenously) were applied additionally; in 16 (subgroup E2) – metrogil-gel (25 – 30 ml in microenema), fluorouracyl (500 mg/m<sup>2</sup> intravenously) and LLFMF (30 ± 9) mT, during 18 – 20 min were applied. The immunohistochemical investigation of proliferative activity (the Ki-67 level) in the biopsy material before and after (in 1 – 2 days) of neoadjuvant treatment with subsequent surgical intervention was used.

**Results.** Before neoadjuvant therapy conduction the Ki-67 level in tumors of the patients' compaison group have constituted (29.4 ± 13.9)%, and in the main group – (27.8 ± 9.5)%; after neoadjuvant therapy the Ki-67 level in the comparison group have reduced down to (23.5 ± 13.2)%, in the E1 subgroup – to (18.4 ± 8.0)%, and in the E2 subgroup – to (12.6 ± 5.3)%.

**Conclusion.** While application of LLFMF the efficacy of the neoadjuvant CHT with the standard fractioning radiation is enhancing significantly, the method may be recommended for preoperative protocols of treatment in patients, suffering cancer recti.

**Keywords:** cancer recti; chemotherapy; radiation therapy; low-frequency magnet field; Ki-67.

За даними Національного канцер-реєстру та інших провідних світових баз даних, більш ніж 50% первинно виявлених хворих на РПК по-

казане проведення комбінованого неoad'ювантного та радикального хірургічного лікування, що спонукає до розробки нових і вдосконалення

існуючих методів неoad'ювантного комбінованого лікування з застосуванням різних хімічних і фізичних радіомодифікуючих чинників.

При реалізації спільної дії іонізуючого випромінювання та протипухлинних лікарських засобів внаслідок сумарного ефекту кожного компоненту створюються умови для більш вираженого регресу пухлини завдяки перерозподілу фракцій оксигенованих і гіпооксигенованих клітин та змінам процесів репарації, що сприяє підвищенню радіочутливості клітин пухлин.

З точки зору збільшення протипухлинного ефекту перспективним є одночасне включення до ПТ РПК чинників хімічної, фізичної радіомодифікації та однієї з схем ХТ, що є одним з перспективних напрямків підвищення ефективності ПТ.

Існують способи комбінованого лікування РПК, в яких для підсилення дії ПТ на ракові клітини передбачають: 1) введення радіомодифікатора метронідазолу безпосередньо в тканину пухлини за одночасного проведення локальної гіпертермії з подальшим фракційним опроміненням пухлини за динамічним курсом у сумарній дозі 20 Гр [1]; 2) підведення радіомодифікуючої суміші (дипрофлін, партусистен, димексид) безпосередньо до пухлини в просвіт прямої кишки за 0,5 – 1 год до сеансів (фракцій) ПТ [2]; 3) введення радіомодифікатора (метронідазолу) всередину за 3 – 3,5 год до проведення випромінювання у великих фракціях. ПТ проводять фракційно, протягом 3 тиж. Великі фракції (2 по 6 Гр через день) застосовують на початку і наприкінці курсу в поєднанні з метронідазолом (8 – 12 г одноразово) [3]; 4) локальна радіомодифікація пухлини шляхом ендovasкулярної перфузії її тканин 5% розчином метронідазолу через верхню прямокишкову або одну з внутрішніх клубових артерій з подальшою їх оклюзією з використанням нелізованих рентгеноконтрастних емболів, причому, одноразову дистанційну ПТ в дозі 10 Гр проводять через 1 год після радіомодифікації, а операцію виконують не раніше ніж через 24 год після опромінення [4].

Проте, радіомодифікація не завжди може бути досягнута або корелює з частотою інтраопераційних чи післяопераційних ускладнень, що не виправдовує її застосування. З потенційних недоліків та можливих ускладнень незабезпечення до-

статньої радіомодифікації всієї пухлини через нерівномірне поширення радіомодифікатора в тканині пухлини, ризик інфікування й абсцедування пухлини за умови ін'єкційного введення радіомодифікатора, що негативно впливає на хід оперативного втручання і збільшує ризик виникнення післяопераційних гнійно-септичних ускладнень.

Сумнівною є ефективність радіомодифікації пухлини сумішшю препаратів лише поверхневих (екзофітних) шарів пухлини, а за часткової обтурації пухлиною прямої кишки контакт радіомодифікуючого препарату можливий лише з дистальною поверхнею пухлини.

Негативно на загальний стан хворого впливають методи, пов'язані з введенням метронідазолу всередину, через подразнювальну дію препарату на слизову оболонку травного каналу та нейротоксичність.

Деякі способи радіомодифікації передбачають одноразову великофракційну ПТ як етап комбінованого лікування, що не відповідає сучасному клінічному протоколу надання медичної допомоги хворим на рак товстої кишки. Ендovasкулярна радіомодифікація має недоліки, зокрема, ендovasкулярні втручання мають особливості й ускладнення: обмеження ендovasкулярного розташування катетерів, введення збільшених доз гепарину або низькомолекулярних гепаринів (що негативно впливає на подальше хірургічне втручання), висока вартість матеріально-технічного забезпечення ендovasкулярної процедури тощо. Методи ендovasкулярної редукції кровотоку в пухлині після її радіомодифікації забезпечують зменшення кровообігу в пухлині, що зумовлює гіпоксію клітин пухлини. В той же час, гіпоксія пухлини є найбільш характерною ознакою зляклого росту, її вважають фактором прогресування пухлини [5, 6]. За даними експериментальних та клінічних досліджень, гіпоксія індукує експресію сигнальних шляхів, що забезпечують виживання клітин пухлини за умови несприятливого мікрооточення, зокрема, нестачі кисню, та зляклене прогресування, в тому числі зляклене метастазування [7, 8]. У свою чергу, кисень є універсальним радіосенсибілізато-

ром, підсилює радіочутливість клітин пухлини [9]. Таким чином, методи ендovasкулярної радіомодифікації з редукцією кровотоку в ділянці пухлини провокують її гіпоксію, що є несприятливим чинником як щодо ефективності ПТ, так і фактору прогресування пухлини.

Метою дослідження було порівняння ефекту передопераційної стандартної ПТ в поєднанні з ХТ та ХТ і МНМП з подальшим дослідженням проліферативної активності пухлин у хворих на РПК.

## **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

У 2015 – 2016 рр. проведено контрольоване проспективне одноцентрове рандомізоване дослідження з вивчення ефективності підсилення протипухлинного ефекту ПТ з використанням середників фізичної та хімічної радіомодифікації у хворих на рак середньо- та нижньоампулярного відділів прямої кишки II – III стадії (T1–4N0–2M0).

Критерії включення у дослідження.

1. Поінформована добровільна згода на проведення діагностики, лікування, операції та знеболення у хворих на РПК.

2. Морфологічна верифікація аденокарциноми прямої кишки.

3. Стадія онкологічного захворювання (T1–4N0–2M0).

4. Загальний стан пацієнта за індексом Карновські 100–50 балів.

5. Супутні захворювання в стадії компенсації.

Критерії не включення у дослідження.

1. Загальний стан пацієнта за індексом Карновські менше 50 балів.

2. Наявність синхронного та метастатичного раку.

3. Виявлення супутніх захворювань в стадії субкомпенсації та декомпенсації.

У дослідження включені 43 пацієнти віком від 35 до 80 років, у середньому (63,5 ± 9,61) року, в тому числі 25 (58,1%) чоловіків і 18 (41,8%) жінок. За результатами обстеження хворі рандомізовані на дві групи.

У 20 хворих (контрольна група) досліджували проліферативну активність (рівень Ki-67) в аденокарциномах прямої кишки, проводили НРТ в сумарній вогнищевій до-

зі (СВД) 20–25 Гр (4 – 5 сеансів по 5 Гр), по завершенні якої повторно досліджували проліферативну активність (Ki–67) в аденокарциномах та виконували оперативне втручання через 1 – 3 доби після опромінення.

У 23 хворих (основна група) досліджували проліферативну активність (Ki–67) в аденокарциномах прямої кишки, проводили НПТ в СВД 20 – 25 Гр (4 – 5 сеансів по 5 Гр) з застосуванням двох радіомодифікуючих чинників (метрогіл–гель ректально, ХТ – у 7 хворих, підгрупа Е1) і трьох радіомодифікуючих чинників (МНМП, метрогіл–гель ректально, ХТ – у 16 хворих, підгрупа Е2), після завершення якої повторно досліджували проліферативну активність (рівень Ki–67) в аденокарциномах та виконували оперативне втручання.

Проліферація клітин пухлини – це невід’ємна складова злоякісних пухлин, часто пов’язана з їх агресивністю. Білок Ki–67 експресується з G1 по M фазу клітинного циклу, з його допомогою оцінюють проліферуючий пул клітин [10].

Діагноз встановлювали на основі загальноклінічних (з оцінкою загального стану пацієнта за індексом Карновські), інструментальних (УЗД органів черевної порожнини, малого таза та заочеревинного простору, ректороманоскопія/колоноскопія з біопсією пухлини, спіральна комп’ютерна томографія органів грудної, черевної порожнини та порожнини малого таза з внутрішньовенним контрастуванням) методів, морфологічного дослідження біопсійного матеріалу.

Для гістологічного дослідження брали фрагменти пухлини розмірами 0,5 × 0,5 × 0,5 см з центральної та периферійної зон новоутворення. Матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну (рН 7,0–7,2) протягом 1 доби з подальшим зневодненням, заливали в парафін в апараті карусельного типу «ТМ–4М». Гістологічне дослідження проводили на депарафінованих зрізах завтовшки 7 × 10<sup>-6</sup>м, які забарвлювали гематоксиліном та еозинном за стандартною методикою. Для проведення ІГХ дослідження виготовляли зрізи завтовшки 5 × 10<sup>-6</sup>м, здійснювали стандартну депарафінацію та зневоднення у ксилолі

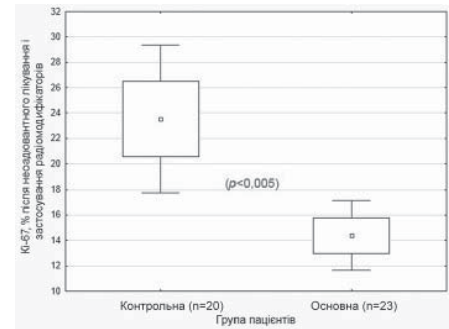
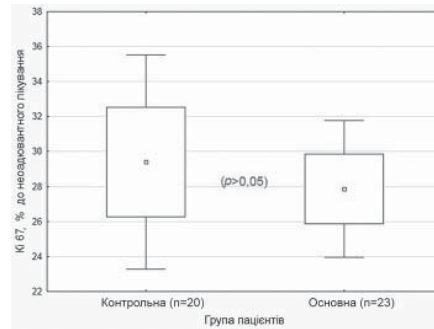


Рис. 1. Рівень Ki–67 в двох групах пацієнтів на етапі до та після неоад’ювантного лікування і застосування радіомодифікаторів.

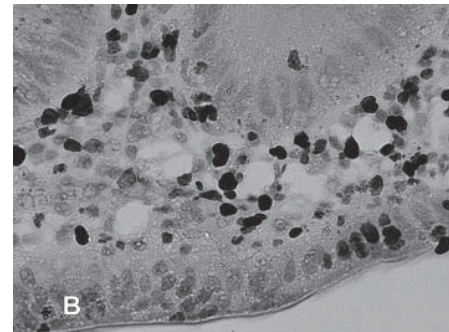
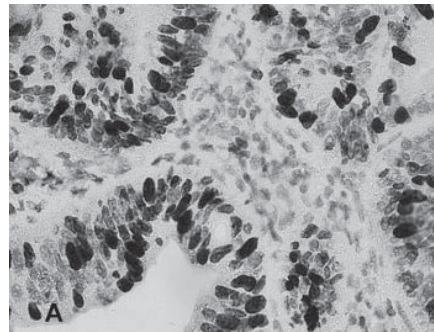


Рис. 2. Рівень експресії Ki–67 в аденокарциномі прямої кишки пацієнтки К. А – до ПТ; В – після ПТ і застосування радіомодифікаторів. 36. ×400.

та спиртах зростаючої концентрації. Демаскування антигенів проводили на водяній бані «ВБ–4» при температурі 97 – 98° С. Реакція антиген–антитіло візуалізована з використанням системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» («Thermo scientific», США), що включала блокування ендогенної активності пероксидази перекисом водню, блокування неспецифічного фонового забарвлення з використанням «Ultra V block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto» та кінцеву візуалізацію діамінобензидином з дозбарвленням ядер гематоксиліном Маєра. Позитивним результатом ІГХ реакції вважали наявність специфічного забарвлення ядер клітин пухлини. Рівень Ki–67 обчислювали як відсоток позитивної реакції у 2000 ракових клітинах. Рівень експресії білка Ki–67 оцінювали напівкількісним методом у відсотках.

У хворих обох груп дистанційну НПТ проводили за методикою великого фракціонування у разовій вогнищевій дозі (РВД) 5 Гр, СВД 20–25 Гр на гамма–терапевтичних установках АГАТ Р/Р1 з джерелами випромінювання <sup>60</sup>Со. Хірургічне втру-

чання виконували через 24 – 48 год.

МНМП створювали за допомогою портативного апарата МАГ 30–4, який розташовували в крижово–куприковій ділянці. Максимальна локальна магнітна індукція в ділянці апарата становила (30 ± 9) мТл, тривалість 18 – 20 хв. Всі радіомодифікатори вводили/застосовували одночасно і безпосередньо перед кожним сеансом гамма–терапії.

Статистичний аналіз проводили за допомогою прикладної програми Statistica 10 (StatSoft Inc., США) за стандартною методикою. Відмінності вважали достовірними за p < 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТИ

Рівень Ki–67 клітин аденокарцином прямої кишки до НПТ і радіомодифікації у пацієнтів контрольної групи становив (29,4 ± 13,9)%, основної групи – (27,8 ± 9,5)% (p > 0,05). Статистично достовірні розбіжності рівня Ki–67 в аденокарциномах прямої кишки виявлені після ПТ та радіомодифікації: у контрольній групі – (23,5 ± 13,2)%, в основній – (14,3 ± 6,69)% (p < 0,005), в якій рівень Ki–67 був значно меншим порівняно з таким в період до початку ПТ і засто-



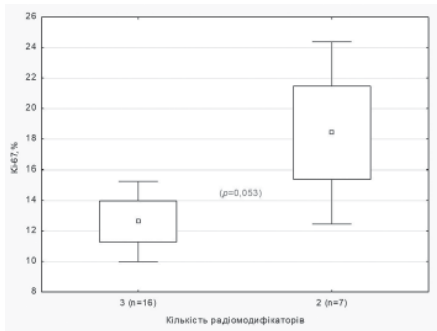


Рис. 3.

Рівень Ki-67 у підгрупах пацієнтів, яким застосовували 2 і 3 радіомодифікатори.

сування радіомодифікаторів (рис. 1).

Рівень експресії Ki-67 в аденокарциномах прямої кишки пацієнтів контрольної групи після проведення ПТ зменшився на 1,6%, у пацієнтів основної групи після ПТ і полірадіомодифікації – на 9% ( $p = 0,048$ ).

Рівень експресії Ki-67 значно знижувався в аденокарциномах прямої кишки після ПТ одночасно з застосуванням фізичних і хімічних радіомодифікаторів, що свідчило про

канцероцидний/канцеростатичний ефект на тлі впливу полірадіомодифікаторів (рис. 2).

При аналізі рівня експресії Ki-67 в основній групі (підгрупа E1), яким проводили радіомодифікацію двома препаратами, встановлене зменшення проліферації до  $(18,4 \pm 8)\%$ ; в підгрупі пацієнтів E2, у яких застосовані три радіомодифікатори – до  $(12,6 \pm 5,3)\%$  ( $p = 0,053$ ) (рис. 3).

При застосуванні трьох радіомодифікаторів з різним фізичним механізмом впливу встановлене більш виражене статистично значуще зниження рівня експресії Ki-67 в аденокарциномах прямої кишки. Також у пацієнтів основної групи відзначений виражений прямий кореляційний зв'язок між факторами впливу на пухлину (радіомодифікаторами) та зниженням рівня експресії Ki-67 ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,05$ ).

#### ОБГОВОРЕННЯ

Встановлене достовірне зниження рівня експресії Ki-67 в аденокар-

циномах прямої кишки у пацієнтів після ПТ та полірадіомодифікації: у контрольній групі – до  $(23,5 \pm 13,2)\%$ , в основній – до  $(14,3 \pm 6,69)\%$  ( $p < 0,005$ ).

Встановлений прямий кореляційний зв'язок між факторами впливу на пухлину (НПТ і полірадіомодифікація) та зниженням рівня експресії Ki-67 ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,05$ ).

Вивчення змін рівня експресії Ki-67 в аденокарциномах прямої кишки в період до і після неoad'ювантного лікування дозволяє об'єктивно оцінити ефект полірадіомодифікації.

#### ВИСНОВКИ

1. У хворих на РПК на тлі полірадіомодифікації досягнутий кращий ефект неoad'ювантного лікування.

2. Пацієнтам за високого рівня проліферації Ki-67 в аденокарциномах прямої кишки рекомендоване застосування радіомодифікаторів в неoad'ювантному лікуванні.

#### REFERENCES

1. Sposob lechenija raka prjamoj kishki: pat 1540072 SSSR. N 4307006/14; zajavl. 18.09.1987; opubl. 27.08.2002. [In Russian].
2. Sposob radiosensibilizacii opuholi: pat 2145217 C1. RF: zajavl. 31.07.1996; opubl. 10.02.2000. [In Russian].
3. Knish VI. Rak obodochnoj i prjamoj kishki. Moskva:Medicina; 1997; 304 p. [In Russian].
4. Sposob kombinirovannogo lechenija raka prjamoj kishki: pat 2269341 RF, N 2004121891/14; zajavl. 16.07.2004; opubl. 10.02.2006. [In Russian].
5. Tatum JL, Kelloff GJ, Gillies RJ, Arbeit JM, Brown JM, Chao KS, et al. Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. International Journal of Radiation Biology. 2006;82(10):699–757.
6. Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. Cancer and Metastasis Reviews. 2007;26(2):225–39.
7. Semenza GL. Cancer–stromal cell interactions mediated by hypoxia–inducible factors promote angiogenesis, lymphangiogenesis, and metastasis. Oncogene. 2013;32(35):4057–63.
8. Walsh JC, Lebedev A, Aten E, Madsen K, Marciano L, Kolb HC. The clinical importance of assessing tumor hypoxia: relationship of tumor hypoxia to prognosis and therapeutic opportunities. Antioxidants & Redox Signaling. 2014;(21):1516–54.
9. Barsukov JuA, Tkachev SI, Ol'tarzhevs'ka ND, Kuz'michev DV, Gordeev SS. Sozdanie novej formy metronidazola i ee klinicheskoe primenenie v shemah klinicheskogo lechenija bol'nyh rakom prjamoj kishki. Onkologicheskaja Koloproktologija. 2012;(3):11–8. [In Russian].
10. Starborg M, Gell K, Brundell E, Höög C. The murine Ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. Journal of Cell Science. 1996;(109):143–53.