

К.А. Галахин, В.Ф. Коноваленко, Т.В. Гордиенко

## Новый неоадьювант (ГА-40) в комплексном лечении больных меланомой кожи

Институт онкологии АМН Украины, Киев

**Ключевые слова:** кожа • меланома • лечение

Фитопрепарат, наряду с иммуотропными свойствами и цитолитическим действием на опухолевые клетки, проявляет высокую антибластомную эффективность с реализацией в апоптоз, патологические митозы, некрозы, благодаря чему достигается двукратное уменьшение содержания в МК опухолевой паренхимы с явлениями диффузной лимфоидноклеточной инфильтрации стромы с дальнейшим развитием склероза.

### Новий неоад'ювант (ГА-40) в комплексному лікуванні хворих на меланому шкіри

К.О. Галахін, В.Ф. Коноваленко, Т.В. Гордієнко

Фітопрепарат поряд з імуотропними властивостями і цитолітичною дією на пухлинні клітини, проявляє високу антибластомну ефективність з реалізацією в апоптоз, патологічні мітози, некрози, завдяки чому досягається двократне зменшення вмісту в МШ пухлинної паренхіми з явищами дифузної лімфоїдноклітинної інфільтрації стромі пухлини з подальшим розвитком склерозу.

**Ключові слова:** шкіра • меланома • лікування

*Патологія.* – 2008. – Т.5, №1. – С.28-33

### New neoadjuvant (GA-40) in complex treatment of skin melanoma patients

K.A. Galakhin, V.F. Konovalenko, T.V. Gordienko

Alongside with immunotropic properties and cytolytic effect on tumor cells, phytopreparation has high anti-tumor efficacy with realization into apoptosis, pathological mitosis and necrosis. Thanks to the above said properties two-fold decrease of tumor parenchyma in skin melanomas with manifestations of diffuse lymphoid-cellular infiltration of tumor stroma with subsequent development of sclerosis is achieved.

**Key words:** skin • melanoma • treatment

*Pathologia.* 2008;5(1):28-33

### Введение

Злокачественная опухоль – меланома кожи (МК) – в силу своих агрессивных биологических свойств не уступает раку, а нередко и превосходит его по темпам опухолевой прогрессии, частоте рецидивирования и метастазирования, непродолжительной жизнью пациентов.

Как известно, классическим подходом в лечении больных МК является хирургический метод радикального удаления опухоли с отступом в пределах здоровой кожи и подлежащих мягких тканей, вплоть до жировой клетчатки, с последующими курсами адьювантной биотерапии для профилактики рецидивов и метастазов [1]. Собственный опыт диагностики и лечения 1800 больных показал, что метастазы опухоли в течение первого года после удаления МК возникают у 40% больных, к третьему году этот показатель возрастает до 60%, а к 5-летнему рубежу метастазы манифестируют у 70% пациентов [1].

Неоднократные попытки предоперационного использования облучения МК, воздействия на нее лазеро-, и магнитотермией, криодеструкцией и другими локальными физико-химическими факторами периодически появляются в литературе, но встречаются со

сдержанным оптимизмом со стороны онкологов и не находят широкого клинического применения. Это обусловлено распространенным мнением об "особой" злокачественности МК, когда даже при подозрении на нее не следует делать биопсию или какие-либо предоперационные лечебные воздействия. Диагноз МК нередко ассоциируется с фатальным исходом не только среди пациентов, но и врачей. Обращение в ИО АМНУ ученых-разработчиков из медико-биологического центра "Alexis" (Тбилиси, Грузия) с предложением использовать новый препарат (Купена горная, Polgonatum varticillatum) с учетом заявленных в инструкции его клинического применения как иммунокорректора, поначалу не вызвало повышенного научно-практического интереса, поскольку в институте широко используется в послеоперационных схемах лечения онкологических больных, включая МК, иммуотропные препараты – украинский лаферон (аналог Интрона А, США; реальдирина, Литва; реаферона, Россия), а также цитокинотерапия, проводимая в сочетании рекомбинантного  $\alpha$ -2в интерферона с интерлейкином 2 [2]. Вместе с тем, биохимические исследования, проведенные в Киеве по изучению молекулярного профиля ГА-40, показали наличие в нем сотен малых

полипептидов, которые в нано-, и пикоконцентрациях легко транспортируются в организме, проявляют высокую тропность к лигандному взаимодействию с мембранными рецепторами органов и тканей [3]. Исследования, проведенные в Москве, демонстрируют высокую эффективность ГА-40 как препарата иммунореабилитационного типа со стимуляцией продукции цитокинов и широким спектром иммуотропных свойств, нормализующих показатели Т и В-клеточных звеньев иммунитета [4]. В онкологическом аспекте особый интерес вызывают результаты исследований, выполненных в Вашингтоне [5], показавшие, в частности, антибластомную активность ГА-40 как индуктора апоптоза опухолевых клеток "in vitro" и "in vivo", а также его стимулирующие свойства в синтезе фактора некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ). Поэтому было принято решение провести клиническую апробацию препарата на больных МК по новому назначению.

**Цель работы** – оценка лечебного патоморфоза МК для выяснения возможных туморотропных свойств препарата ГА-40.

### Материалы и методы

Фитопрепарат ГА-40 утвержден приказом МЗ Украины №263 от 25.05.07 (№ рег. свид. ИА/6435/01/01/) к медицинскому применению как иммунокорректор в комплексном лечении больных карциномами, пациентов онкогематологического профиля, а также при доброкачественных новообразованиях - мастопатия, миома матки, аденома предстательной железы. Препарат используется в виде п/к или в/м инъекций с растворением 5 мл воды для инъекций лиофилизованного порошка растительных полипептидов (1000 мкг) во флаконе. Одноразовая доза – 2 мкг/кг веса тела. Курс лечения – 21 инъекция по схеме: две инъекции в неделю (4-5 недель), последующие недели по 1 инъекции в неделю.

**Объект исследования** – 15 больных МК, 10 из них (Т1-4 N0 M0), 5 – (Т1-4 N1-2 M0) с наличием регионарных метастазов в лимфатических узлах, расположенных в анатомических зонах потенциального метастазирования. Первичная локализация МК различна: туловище (грудь, спина), верхние, нижние конечности. Препарат использовался согласно указанной выше инструкции в виде п/к инъекций при информированном согласии пациентов и разрешении комиссии по биоэтике института. Под общей анестезией проводилось радикальное удаление МК с использованием при необходимости пластики местными тканями или пластики свободным лоскутом.

Тринадцать МК были гистологически верифицированы как пигментные поверхностно распространяющиеся (10 случаев) и узловые (2 случая) меланомы;

в одном случае МК была безпигментной (дополнительно использованы МКАТ – S-100, НМВ-45). 10 МК имели карциномоподобное (эпителиоподобное) строение и в 3-х случаях - саркомоподобную (веретенчатую) структуру.

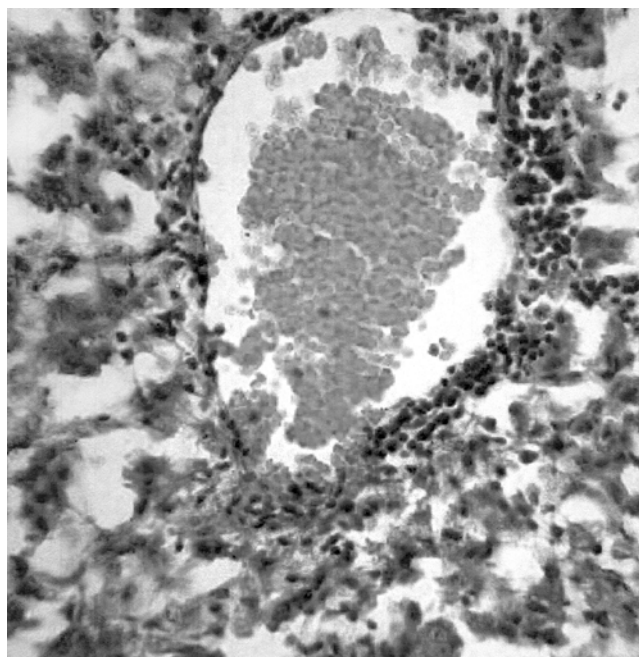
Микропрепараты из периферической и центральной зон МК) исследовались на всех уровнях инвазии по Кларку и толщине опухоли до 5 мм по Бреслоу при помощи светового микроскопа "Рейхерт" с цифровой фотокамерой "Коника, Минольта".

### Результаты и их обсуждение

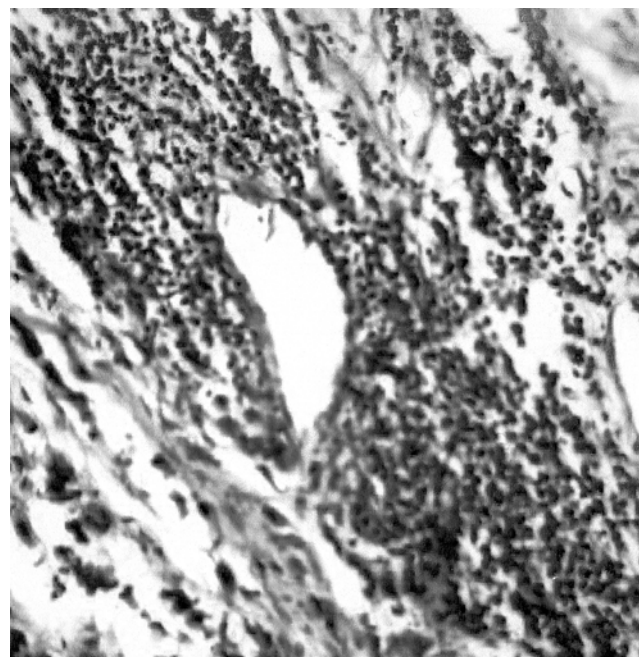
После прохождения неoadъювантного лечения препаратом ГА-40 (в среднем 18-20 инъекций) все пациенты не предъявляли жалоб на негативное изменение общесоматического статуса, случаи индивидуальной непереносимости не отмечены. При отсутствии каких-либо ятрогений все пациенты обращали внимание на улучшение психоэмоционального статуса и проявляли оптимизм; ко дню операции – гемоглобин в пределах нормы, нормализовалось содержание лимфоцитов в крови (у 9 больных на момент первичного обращения в институт была лимфоцитопения), уменьшалась СОЭ, которая до приема препарата была повышенной у 8 пациентов.

Лечебный патоморфоз МК, детерминированный ГА-40, при микроскопическом анализе препаратов удаленных опухолей представляет собой широкий спектр альтеративно-деструктивных изменений неопластической паренхимы и неопухолевого стромы, которые по качественно-количественным характеристикам имеют принципиальные отличия от МК тех больных, у которых лечение начиналось с хирургического удаления (контроль). Основные постоянные феномены (эквиваленты) лечебного патоморфоза МК, обнаруженные у всех пациентов: "иммунное насыщение" стромы опухолей с явлениями цитолиза опухолевой паренхимы; гемолимфоваскулярные нарушения микроциркуляторного русла; некрозы опухолевой паренхимы, многочисленные фигуры апоптоза и патологических митозов опухолевых клеток, фиброз. Эти патоморфологические изменения фактически отсутствовали в контроле. Считаем целесообразным представить морфологическую аргументацию терапевтической эффективности ГА-40 в иллюстративном виде (рис. 1-12).

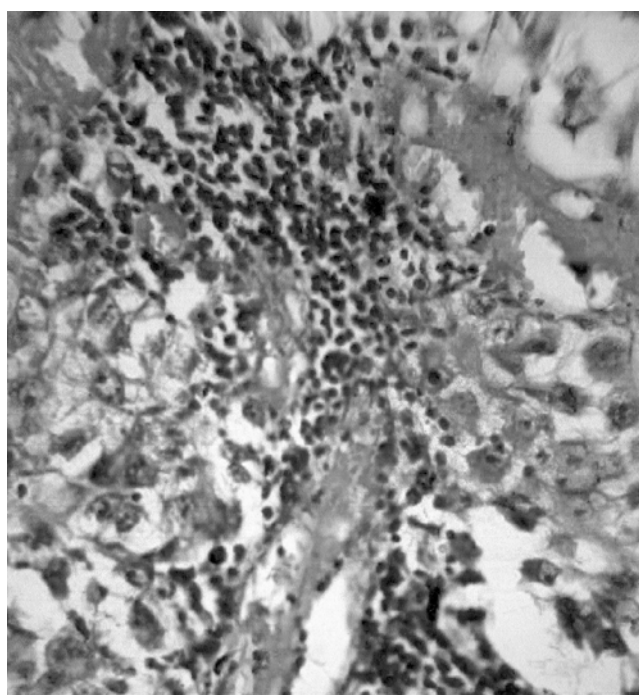
Лимфоидные клетки проникают в стенки и располагаются вокруг стенок кровеносных сосудов (рис. 1,2) и лимфатических сосудов (рис. 3). Лимфоидноклеточные инфильтраты насыщают строму опухоли (рис. 4) и в отдельных ее участках вызывают цитолиз опухолевой паренхимы (рис. 5). Литические свойства препарата обуславливают развитие индуцированных некрозов колликативного типа (рис. 6) с явлениями кариолизиса (рис. 7). В одном поле зрения микро-



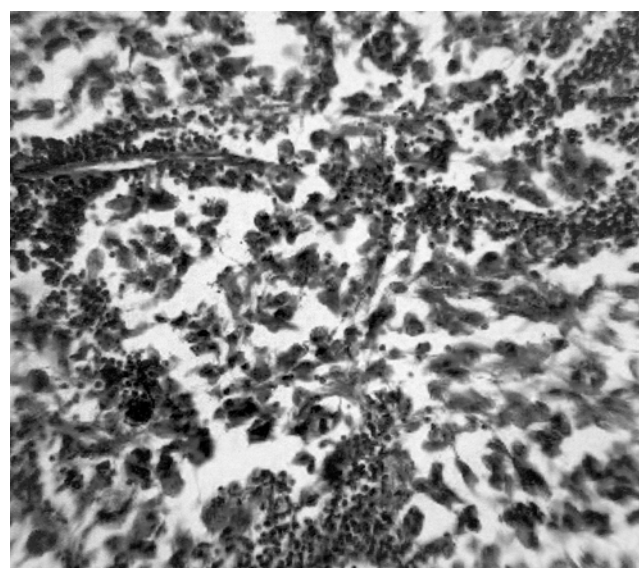
**Рис. 1** Пенетрация стенки сосуда лимфоидными клетками. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: х 200.



**Рис. 3** Перилимфоваскулярная лимфоидноклеточная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: х 200.



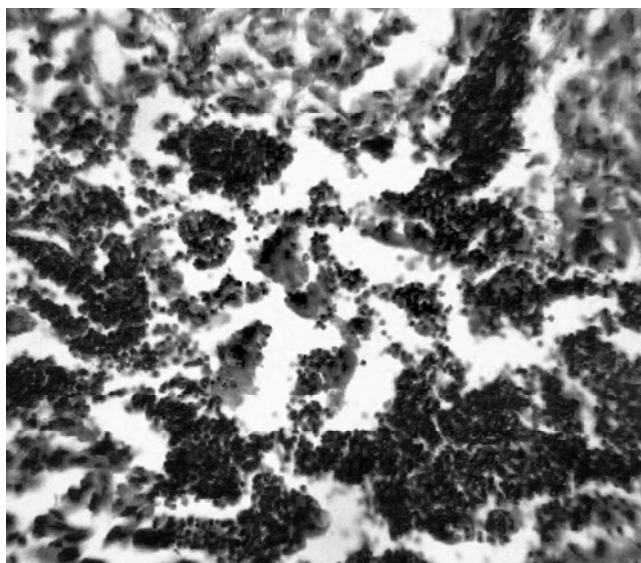
**Рис. 2** Экстравакулярные скопления лимфоидных клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: х 200.



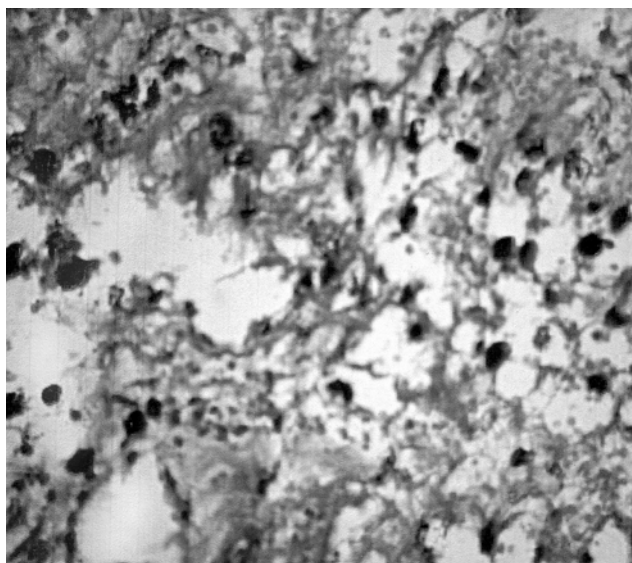
**Рис. 4** Лимфоидноклеточная инфильтрация стромы опухоли. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: х 120.

скопа можно видеть сочетания различных форм патологических митозов с апоптозом опухолевых клеток (рис. 8). Другой тип необратимых изменений опухолевой паренхимы – коагуляционный некроз встречается несколько реже (рис. 9). Лечебный патоморфоз МК в десмопластической фазе отсроченных морфологических событий закономерно проявляется образованием грануляционной ткани (рис. 10),

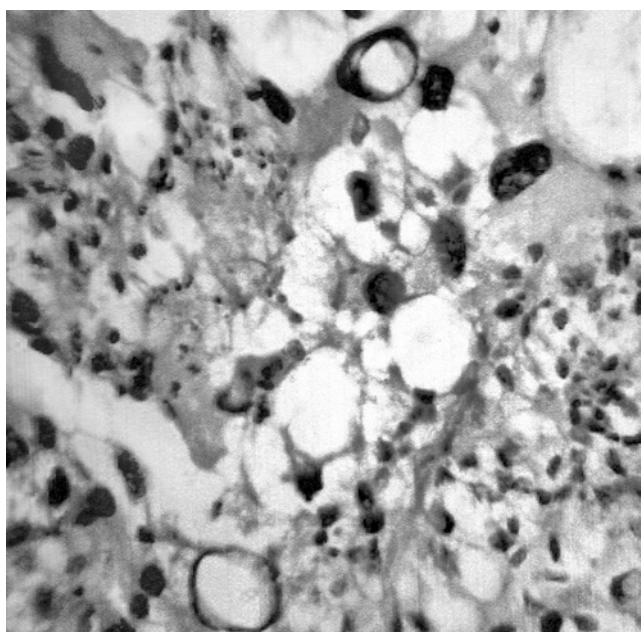
ограничением участков иммунного повреждения опухолевой паренхимы разрастаниями более зрелой соединительной ткани (рис. 11), развитием периваскулярного склероза (рис. 12). Морфометрические расчеты остаточной структурно жизнеспособной опухолевой паренхимы по критерию "интактные ядра" (отсутствие кариопикноза, кариолизиса, кариорексиса) проведены на 10 МК эпителиоподобного строения. Долевое содержание такого резидуального опухолевого компонента в МК составляет  $31,3 \pm 7,8\%$



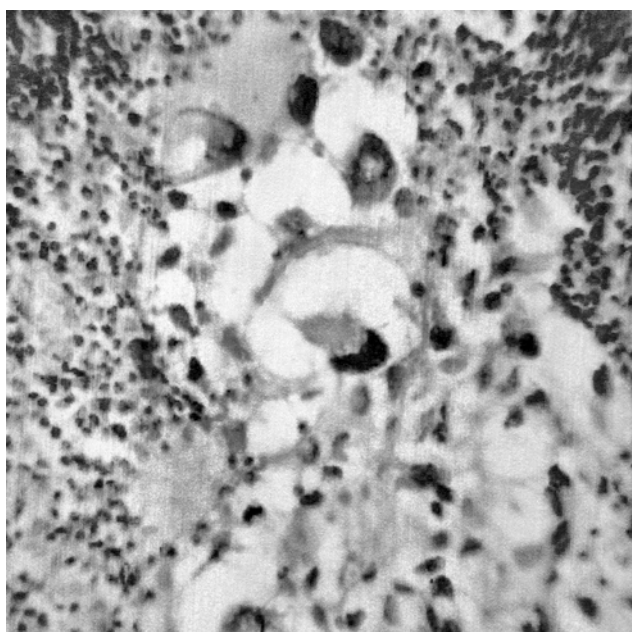
**Рис. 5** Цитолиз опухолевой паренхимы лимфоидными клетками. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.



**Рис. 6** Колликативные некрозы опухолевой паренхимы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.



**Рис. 7** Кариолизис опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 200.

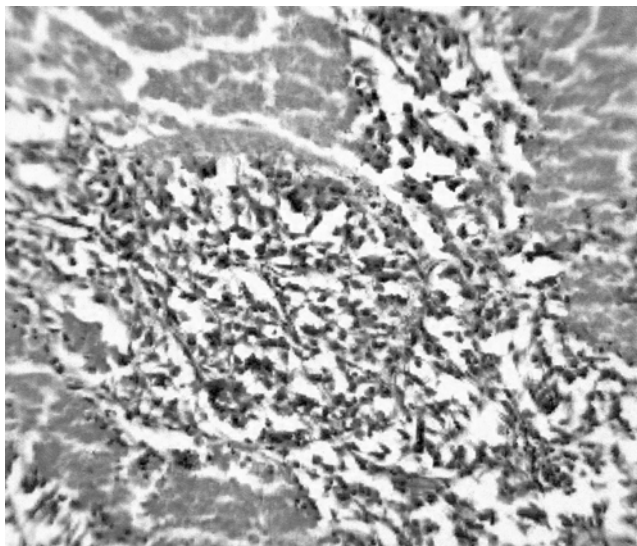


**Рис. 8** Сочетание апоптоза и патологических митозов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 200.

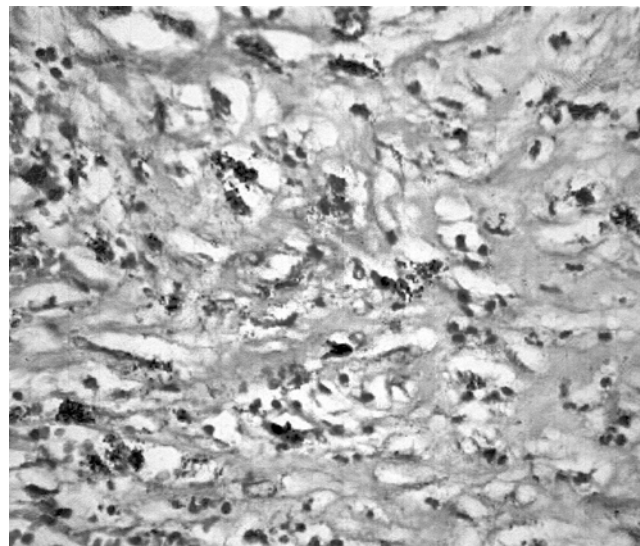
по сравнению с исторической группой контроля -  $67,5 \pm 8,1\%$  ( $P < 0,05$ ). Полученные данные квантификационного анализа убедительно демонстрируют антибластомные свойства препарата, туморотропность которого не вызывает сомнений в связи с двукратным снижением содержания в МК опухолевой паренхимы. Достижение такого эффекта девитализации МК на предоперационном этапе лечения позволяет надеяться на снижение частоты метастатического риска после выполнения хирургических вмешательств. Так, среди 10 больных МК без метастазов к началу неоадъювантного лечения ГА-40, в течение года после

выполнения операций регионарные и отдаленные метастазы не развились.

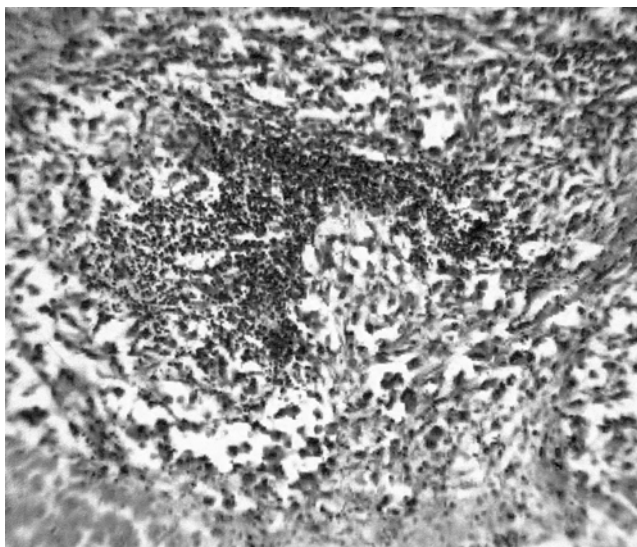
Вышеописанная картина лечебного патоморфоза МК не столь значительна и демонстративна при исследовании метастазов в лимфатических узлах, которые имели место до начала неоадъювантного лечения препаратом ГА-40. Зарегистрированы изменения в виде мелкоочаговых некрозов лишь отдельных групп (комплексов) клеток, обнаруженные одиночные клетки в состоянии апоптоза или патологических митозов не носили характера закономерного явления, столь свойственного первичнолокализованной МК без метастазов.



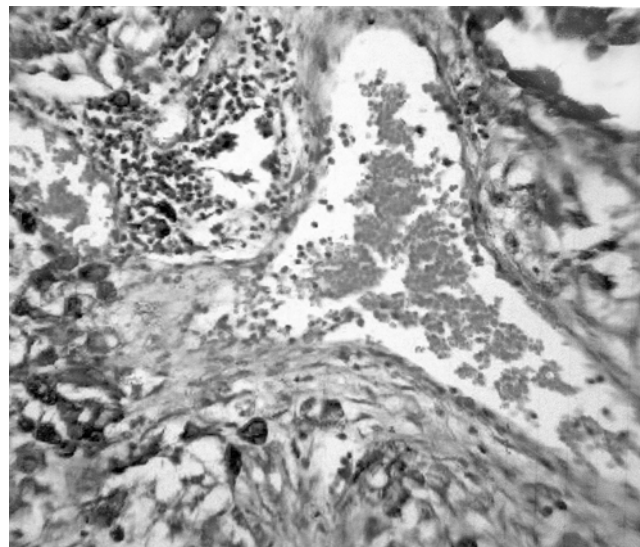
**Рис. 9** Коагуляционные некрозы опухолевой паренхимы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.



**Рис. 10** Грануляционная соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.



**Рис. 11** Обособление участка иммунного повреждения опухолевой паренхимы зрелой соединительной тканью. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.



**Рис. 12** Периваскулярный склероз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 120.

### Выводы

1. Препарат ГА-40, использованный по новому клиническому назначению среди больных МК (с метастазами или без них), наряду с выраженными иммуностропными свойствами, включающими киллерные цитолитические эффекты на опухолевые клетки первичной МК, обладает высокой антибластомной активностью, проявляющейся развитием мультифокальных некрозов неопластической паренхимы и необратимыми изменениями ядерного аппарата опухолевых клеток с повышенным выходом в апоптоз и патологические митозы.

2. При завершении неoadьювантного лечения препаратом ГА-40 развивается стромальная и заместительная десмоплазия МК за счет формирования со-

единительной ткани, что в сочетании с развитием более ранней девитализации опухолевой паренхимы и диффузной лимфоидноклеточной инфильтрации стромы создает реальные условия для профилактики метастазирования после последующего хирургического лечения.

### Литература

1. Коровін С.І., Толстопятов Б.О., Воронцова А.Л., Галахин К.О. Післяопераційна ад'ювантна терапія злоякісної меланоми шкіри // Метод. реком.- МОЗ, АМН, НАН України, Укрмедпатентінформ.-К., 2003.-15с.
2. Коровін С.І., Толстопятов Б.О., Воронцова А.Л. та ін. Цитокіноterapia в лікуванні первиннолокалізованої меланоми шкіри// Метод. реком.-МОЗ, АМН України, Укрмедпатентінформ.-К.: 2006.-16с.

3. *Великий Н.Н.* Отчет об определении количественного и качественного состава препарата ГА-40.-К.:Ин-т биохимии им.Палладина НАН Украины.-2007.
4. *Лопухин Ю.М., Мартынов А.К.* Исследование иммунотропной активности препарата ГА-40.-М.: ГУ НИИ ФХМ.-2006.
5. *Loeb Lawrence A.* Investigation of molecular mechanisms of the anticarcinogenic action of the GA-40 preparation. Univ. of Washington, School of Medicine, Dpt. of Pathol.-WDC, 2005.

*Поступила 20.02.2008 г.*

***Сведения об авторах:***

**Галахин К.А.** – д.мед.н., профессор, руководитель отдела патанатомии Института онкологии АМН Украины;  
**Коноваленко В.Ф.** – д.мед.н., руководитель отдела опухолей опорно-двигательного аппарата Института онкологии АМН Украины;  
**Гордиенко Т.В.** – врач-онколог, диссертант.

***Адрес для переписки:***

Галахин К.А., Институт онкологии АМН Украины, ул. Ломоносова 33/43, Киев, 03022, УКРАИНА.