

Министерство здравоохранения Московской области

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области
«Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского»

«Утверждаю»

Заместитель директора
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского
по науке, образованию и международным связям
профессор А.В. Молочков

Методика прогнозирования эффективности лучевой терапии злокачественных новообразований орофарингеальной зоны

Пособие для врачей

Москва
2015

В пособии для врачей описана методика индивидуального проспективного прогнозирования эффективности лучевой терапии злокачественных новообразований орофарингеальной зоны по схеме расщепленного курса. Методика позволяет оценить в процессе проведения лучевой терапии радиочувствительность опухоли на основании динамики показателей ее пролиферативной активности, определяемых одновременно методом лазерной флуоресцентной диагностики и иммуногистохимическим методом, а также своевременно скорректировать план лечения больного.

Пособие предназначено для врачей радиологов и онкологов радиологических отделений, научно-исследовательских институтов радиологии и онкологии, онкодиспансеров.

Авторы:

П.Ю. Поляков, д-р мед. наук

О.А. Быченков, канд. мед. наук

Д.А. Рогаткин, д-р техн. наук

Л.Е. Гуревич, д-р биол. наук, профессор

Рецензент:

Л.Е. Гаганов – вед. науч. сотр. патологоанатомического отделения ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», главный патологоанатом Московской области, д-р мед. наук

ISBN 978-5-98511-287-0



МОНИКИ

1775

Введение

Рак орофарингеальной зоны остается одной из актуальных проблем современной онкологии. Лучевая терапия опухолей полости рта и ротоглотки относится к основным методам лечения этой категории больных, а у подавляющего большинства пациентов с запущенными формами заболевания – единственно возможной мерой помощи. В зависимости от особенностей опухолевого процесса лучевую терапию применяют как самостоятельный метод лечения, как компонент комбинированного метода в сочетании с оперативным вмешательством, как составную часть комплексной терапии в сочетании с хирургическим лечением и химиотерапией.

По сведениям А.Д. Каприна и соавт., в 2012 г. лучевая терапия была применена у 88,6% больных раком орофарингеальной зоны, в том числе у 24,8% – как самостоятельный метод лечения [1].

Результаты лечения больных раком орофарингеальной зоны нельзя признать обнадеживающими. Пятилетняя выживаемость при этих поражениях для всех стадий составляет от 12,5 до 43% [3].

Неудовлетворительные результаты лечения больных раком орофарингеальной зоны побуждают к поиску новых путей повышения эффективности терапии. Один из них заключается в оптимизации методики лечения каждого конкретного больного на основе индивидуального проспективного прогнозирования эффективности лучевой терапии.

Прогнозирование индивидуальной реакции опухолей представляет собой благоприятную возможность для повышения эффективности противоопухолевого лечения за счет обоснованного выбора лечебной тактики. При этом больные будут избавлены от бесполезного, но не безразличного для организма воздействия. При выявлении радиочувствительности опухоли оправдано проведение радикальной программы лучевой терапии по самостоятельному плану. В случаях выявления резистентности к лучевой терапии при резектабельных поражениях рекомендуется проведение последующего хирургического лечения, а при нерезектабельных, когда хирургия не может использоваться в качестве альтернативы консервативному лечению, – применение радиосенсибилизаторов или радиопротекторов.

Результаты экспериментальных и клинических радиобиологических исследований свидетельствуют о том, что динамика показателей пролиферативной активности опухоли в процессе лучевой терапии может

быть использована в качестве критерия радиочувствительности и прогноза лечения [2].

Предлагаемый нами способ прогнозирования эффективности лучевой терапии злокачественных новообразований ротовой полости по схеме расщепленного курса позволяет на основании показателей пролиферативной активности опухоли оценить в процессе проведения терапии радиочувствительность опухоли и своевременно скорректировать план лечения больного.

Показания и противопоказания к использованию метода

Метод показан при проведении лучевой терапии пациентам, страдающим злокачественными новообразованиями ротовой полости.

Противопоказаниями служат тяжелые психические и соматические сопутствующие заболевания с нарушениями функции сердечно-сосудистой системы, печени, почек и прочих органов в стадии декомпенсации, препятствующие проведению любого вида специального противоопухолевого лечения.

Материально-техническое обеспечение метода

В процессе применения метода используются следующие медицинские диагностические приборы, реактивы и радиотерапевтическая аппаратура:

1. Комплекс многофункциональный лазерный диагностический «ЛАКК-М» по ТУ 9441-004-13232373-2009 в составе: блок диагностики, зонд световодный, светофильтры калиброванные, программное обеспечение на носителе (рег. уд. № ФСР 2009/05953 от 05.11.2009).

2. Облучатель радиотерапевтический кобальтовый TERABOLT тип 100 (модели ACS и SCS), TERABOLT тип 80 (модели ACS и SCS) (рег. № ФСЗ 2011/10496 от 08.09.2011).

3. Установка автостейнера типа 480s (Lab Vision, Великобритания) для проведения иммуногистохимических исследований в автоматическом режиме или аналогичная установка.

4. Антитела:

- маркер пролиферации Ki-67 (клон MIB-1), фирма DAKO;
- цитокератины широкого спектра (клон AE1/AE3), фирма DAKO.

5. Набор KIT Ultra Vision универсальный (фирма LabSystem).

6. Система визуализации DAB+ (фирма DAKO).

Описание метода

С целью индивидуального проспективного прогнозирования реакции опухоли на лучевое лечение нами разработан и применен новый неинвазивный способ определения показателей пролиферативной активности опухоли с использованием лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД). Он основан на регистрации вынужденной флюоресценции в области спектра 600–800 нм природных порфириновых соединений, концентрация которых, по данным литературы, тесно коррелирует с активностью пролиферативных процессов в опухоли. Параллельно с определением показателей пролиферативной активности опухоли методом ЛФД эти же показатели определялись иммуногистохимическим методом по маркеру пролиферации Ki-67.

При лучевой терапии злокачественных опухолей орофарингеальной зоны целесообразно использовать схемы динамического фракционирования дозы. Эти схемы характеризуются сочетанным применением укрупненных и сниженных фракций, а также расщепленного курса. Использование динамических режимов фракционирования дозы повышает противоопухолевый эффект лучевой терапии и способствует сохранности нормальных тканей. С онкологических позиций эти схемы удобны еще и тем, что их можно применять при проведении дистанционной гамма-терапии в плане самостоятельного лечения, а также как компонент сочетанного лучевого или комбинированного метода.

Предпочтительно использование схем динамического фракционирования дозы и динамического мультифракционирования дозы расщепленным курсом.

По схеме динамического фракционирования дозы дистанционная гамма-терапия проводится в режиме 5 раз в неделю, при этом в первые 3 дня ежедневно осуществляется фракциями при разовой очаговой дозе (РОД) 4 Гр, в последующие 9 дней – дважды в день при РОД 1 Гр с интервалом между фракциями 4–6 часов до суммарной очаговой дозы (СОД) 30 Гр (56–58 ед. фактора «время – доза – фракционирование» (ВДФ), эквивалент 34–36 Гр классического фракционирования дозы). Через 10–15 дней после стихания реактивных явлений лечение повторяется по аналогичной схеме до СОД 60 Гр (106–110 ед. ВДФ, эквивалент 66–68 Гр).

По схеме динамического мультифракционирования дозы дистанционная гамма-терапия проводится в режиме 5 раз в неделю, при этом в первые 3 дня ежедневно осуществляется фракциями при

РОД 3,6 Гр, в последующие 10 дней – дважды в день при РОД 1,2 Гр с интервалом между фракциями 4–6 часов до СОД 34,8 Гр (64–66 ед. ВДФ, эквивалент 38–40 Гр классического фракционирования дозы). Через 10–15 дней после стихания реактивных явлений лечение повторяется по аналогичной схеме до СОД 69,6 Гр (119–126 ед. ВДФ, эквивалент 72–76 Гр).

В процессе лучевой терапии онкологических больных по схемам динамического фракционирования дозы показатели пролиферативной активности изучаются в динамике. Первоначально данные снимаются до лечения, второй раз – через 10–14 дней после завершения первой половины курса лучевой терапии (30 или 34,8 Гр), перед началом второй половины курса.

Для определения фракции роста (ФР) до начала лечения воздействуют источником низкоинтенсивного лазерного излучения (через гибкий световод) длиной волны 0,628 мкм и средней мощности 6–10 мВт на опухоль и окружающую ее интактную ткань. Затем на аппарате ЛЭСА-01-БИОСПЕК методом лазерной спектрофотометрии измеряют амплитуду показателей обратно рассеянного излучения максимального отклика в опухоли и интактной области на лазерное воздействие и регистрируют их. Относительную величину фракции роста ($ФР_{отн}$) вычисляют из отношения амплитуды сигнала, полученного от опухоли, к амплитуде, зарегистрированной в интактной области.

Количественная обработка результатов ЛФД проводилась путем вычисления показателя флюоресцентной контрастности биоткани (K_f), принятого нами в качестве диагностического критерия, косвенно отражающего состояние пролиферативной активности опухоли.

K_f – отношение разности к сумме интенсивности лазерного пика и пика флюоресценции – определяли по формуле:

$$K_f = 1 + (I_f \times \beta - I_{bs}) / (I_f \times \beta + I_{bs}),$$

где K_f – коэффициент флюоресцентной контрастности биоткани ($0 < K_f < 2$); I_f – амплитуда регистрируемого сигнала в максимуме спектра флюоресценции; I_{bs} – то же в максимуме спектра обратного рассеяния; β – приборный коэффициент ($\beta \approx 1000$ для длины волны возбуждения 632 нм).

Поскольку измерения проводились в нескольких точках по поверхности опухоли, использовались усредненные показатели K_f .

Затем определяли относительное изменение показателя $\Phi P_{\text{отн}}$ за период от начала лечения до окончания 10–14-дневного перерыва после проведения лучевой терапии (К) по формуле:

$$K = (1 - \Phi P_{\text{отн}} / \Phi P'_{\text{отн}}) \times 100\%,$$

где К – относительное изменение показателя $\Phi P_{\text{отн}}$ за период от начала лечения до окончания 10–14-дневного перерыва после проведения лучевой терапии; $\Phi P_{\text{отн}}$ – фракция роста опухоли до начала лечения; $\Phi P'_{\text{отн}}$ – фракция роста опухоли через 10–14 дней после проведения лучевой терапии.

Иммуногистохимическое исследование показателей пролиферативной активности по маркеру пролиферации Ki-67 проводили на биоптатах из опухоли, полученных с помощью конхотома. Биопсии из опухоли выполнялись дважды, на тех же этапах и из тех же участков опухоли, с которых снимались данные методом ЛДФ, непосредственно после завершения лазерного исследования.

Ткань биопсии фиксировали в 10% растворе формалина, забуференном по Лилли при рН 7,4, заливали в парафин, готовили серийные срезы толщиной 3–5 мкм, депарафинировали по стандартной схеме, после чего окрашивали гематоксилином и эозином. Парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм наносили на предметные срезы с адгезивным покрытием, депарафинировали в РТ модуле и охлаждали до комнатной температуры. Затем программировали и проводили иммуногистохимическую реакцию с Ki-67 в автоматическом режиме (в автостейнере).

После окончания реакции препараты докрашивались в течение 3–5 минут гематоксилином Майера. Использовались соответствующие позитивные и негативные контроли – иммунные и неиммунные сыворотки.

Учет экспрессии Ki-67 в ядрах опухолевых клеток проводился количественным методом: учитывалось число меченых ядер на 100 подсчитанных. Затем определяли индекс пролиферации I-Ki-67, который вычисляется в процентах, как среднее число меченых ядер на 100 при подсчете 500–1000 опухолевых клеток.

Полученные результаты анализировали, причем анализу подвергались случаи совпадения данных, полученных лазерным и иммуногистохимическим методами.

Параллельное уменьшение параметров пролиферативной активности опухоли (ΦP и I-Ki-67) за период от начала лечения до оконча-

ния 10–14-дневного перерыва после проведения лучевой терапии на 20% и более расценивается как благоприятный прогноз, позволяющий рассчитывать на полную регрессию опухоли по завершении всего курса лучевой терапии в СОД 60–69,8 Гр.

Уменьшение параметров пролиферативной активности менее чем на 20% или их повышение является неблагоприятным признаком, свидетельствующим о радиорезистентности опухоли. В этом случае требуется внесение коррективов в план лечения: при резектабельных процессах – операции, при нерезектабельных возможно продолжение лучевой терапии с использованием радиомодификаторов.

Осложнения при использовании метода и способы их устранения

Осложнений при использовании метода мы не наблюдали.

К возможным осложнениям следует отнести повышенную фоточувствительность на воздействие лазерного излучения, следствием которой после проведения диагностических процедур может быть фотоэпителиит, требующий дополнительного лечения с применением препаратов витамина А и ретинола (например, Аевит), β-каротина и введением антигистаминных препаратов.

Эффективность использования метода

Изучена возможность индивидуального проспективного прогнозирования эффективности лучевой терапии на основании динамики показателей пролиферативной активности опухоли, параллельно полученных с помощью ЛФД и иммуногистохимическим методом у 35 больных раком орофарингеальной зоны II–IV стадии в возрасте от 27 до 69 лет. В 94,3% опухоль имела строение плоскоклеточного рака.

Всем пациентам проводилась дистанционная гамма-терапия по схеме динамического мультифракционирования дозы расщепленным курсом до СОД 69,8 Гр. Динамика показателей ФР и I-Ki-67 в процессе лучевой терапии сопоставлялась с непосредственными результатами лечения.

Изучение показателей ФР и I-Ki-67 в динамике показало 3 типа изменений этих параметров:

1) уменьшение параметров ФР в опухоли за период от начала лечения до окончания 10–14-дневного перерыва после проведения лучевой терапии при параллельном уменьшении параметров относительной ве-

личины I-Ki-67 на 20% и более после подведения дозы 34,8 Гр (25 (71,4%) больных);

2) параллельное повышение параметров ФР и I-Ki-67 в опухоли за период от начала лечения до окончания 10–14-дневного перерыва после проведения лучевой терапии или уменьшение этих показателей менее чем на 20% после подведения дозы 34,8 Гр (7 (20%) больных);

3) разнонаправленное изменение I-Ki-67 и ФР (3 (8,6%) больных).

Направленность изменений показателей ФР, оксигенации и микроциркуляции опухоли в динамике мы сопоставили с непосредственными результатами лучевого лечения.

Анализ показал, что между динамикой параметров ФР и I-Ki-67 до и после проведения 1-го курса лучевого лечения и непосредственными результатами этого лечения имеется значимая корреляция.

При одновременном уменьшении параметров ФР и I-Ki-67 на 20% и более 22 из 25 (88%) больных излечены.

В случаях одновременного повышения параметров ФР и I-Ki-67 или уменьшения их менее чем на 20% у 5 из 7 (71,4%) больных непосредственного излечения не было достигнуто.

В целом процент совпадений прогноза – как благоприятного, так и неблагоприятного – составил $77,1 \pm 7,1\%$ (27 больных из 35).

Литература

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году. М.: Изд-во МНИОИ им. П.А. Герцена, 2013.
2. Пелевина И.И., Дарьялова С.Л., Сергеева Н.С., Саенко А.С. Радиобиологические подходы к индивидуальному прогнозированию эффективности лучевой терапии опухолевых заболеваний // Радиационная биология. Радиоэкология. 2005. Т. 45, № 6. С. 657–663.
3. Руководство по онкологии / под ред. В.И. Чиссова, С.Л. Дарьяловой. М.: Мед. инф. агентство, 2008.

Для заметок

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Московской области
«Московский областной научно-исследовательский
клинический институт им. М.Ф. Владимирского»
(129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2)

МЕТОДИКА ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Пособие для врачей

Редактор: Л.Ю. Заранкина

Оригинал-макет: А.В. Васюк

ISBN 978-5-98511-287-0



9 785985 112870 >

Подписано в печать 23.09.2015. Тираж 200 экз. Заказ № 13/15.

Отпечатано в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского