

Возможность модификации функциональной активности нейтрофилов периферической крови в процессе химиолучевого лечения у больных аноректальным раком

Е.В. Слепов¹, Р.А. Зуков^{1,2}, М.С. Сербаева^{1,2}, А.М. Карапетян¹, О.В. Кашаева³, А.Ю. Павленко⁴, Ю.В. Козина¹

¹КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»; Россия, 660133 Красноярск, ул. 1-я Смоленская, 16;

²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России; Россия, 660022 Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; Россия, 127473 Москва, ул. Десятская, 20, стр. 1;

⁴Филиал ЧУОО ВО «Медицинский университет «Реавиз» в г. Москве; Россия, 107564 Москва, ул. Краснобогатырская, 2, стр. 2

Контакты: Руслан Александрович Зуков zukov_rus@mail.ru

Введение. Ионизирующее излучение – эффективный метод противоопухолевого лечения, однако оно оказывает серьезное отрицательное влияние на систему иммунитета, требующее применения методов предупреждения и купирования лучевых реакций. Чувствительным этапом иммунной системы как взаимодействия с опухолевой тканью, так и ответа на радиационное поражение являются нейтрофилы.

Цель исследования – изучение функциональной активности нейтрофилов периферической крови методами хемилюминесцентного анализа у больных аноректальным раком, получавших радиотерапевтическое лечение.

Материалы и методы. В исследование включены 80 больных аноректальным раком, которые получали химиолучевое лечение методом трехмерной конформной лучевой терапии и лучевой терапии под визуальным контролем с последующим применением радиопротектора и без него. Активность нейтрофилов определяли с помощью хемилюминесцентного анализа.

Результаты. У больных аноректальным раком обнаружено ускорение выхода на максимум как спонтанной, так и индуцированной зимозаном хемилюминесценции. Индекс активации хемилюминесценции с люминолом ниже в группе пациентов с аноректальным раком, а с люцигенином – не продемонстрировал различий с группой контроля. Низкий максимальный уровень интенсивности хемилюминесценции с люминолом, как и снижение синтеза вторичных активных форм кислорода в ферментативных системах, является, вероятно, следствием регуляторных внутриклеточных ограничений. После проведенного лечения у пациентов, получающих радиопротектор, наблюдалось снижение количества показателей, имеющих статистически значимые различия с группой контроля. Нежелательных явлений, ассоциированных с терапией дезоксирибонуклеатом натрия, у больных аноректальным раком в процессе лучевого лечения и последующем периоде наблюдения не зафиксировано.

Заключение. Выявленные в процессе лечения различия показателей хемилюминесценции позволяют предположить влияние на них ионизирующего излучения у пациентов с аноректальным раком, получающих стандартную химиолучевую терапию. В процессе использования химиолучевой терапии с радиопротектором эффект препарата проявляется в опосредованном восстановлении функциональной активности клеток. Это подтверждается ускорением выхода люминолзависимой хемилюминесценции на максимальные показатели и снижением количества статистически значимых различий с группой контроля после начала применения препарата.

Ключевые слова: аноректальный рак, дезоксирибонуклеат натрия, радиотерапия, нейтрофилы, хемилюминесценция

Для цитирования: Слепов Е.В., Зуков Р.А., Сербаева М.С. и др. Возможность модификации функциональной активности нейтрофилов периферической крови в процессе химиолучевого лечения у больных аноректальным раком. Онкоурология 2023;19(1):133–40. DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-133-140

Possibility of modification of peripheral blood neutrophils functional activity during chemoradiotherapy in patients with anorectal cancer

E.V. Slepov¹, R.A. Zukov^{1,2}, M.S. Serbaeva^{1,2}, A.M. Karapetyan¹, O.V. Kashaeva³, A.Yu. Pavlenko⁴, Yu.V. Kozina¹

¹A.I. Kryzhanovsky Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Dispensary; 16 1st Smolenskaya St., Krasnoyarsk 660133, Russia;

²V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk 660022, Russia;

³A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia; Build. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia;

⁴Moscow University of Medicine Reaviz; Build. 2, 2 Krasnobogatyrskaya St., Moscow 107564, Russia

Contacts: Ruslan Aleksandrovich Zukov zukov_rus@mail.ru

Background. Ionizing radiation is an effective antitumor therapy, but it has a serious negative effect on the immune system requiring the use of radiation reaction prevention and reduction methods. Neutrophils are a sensitive element of the immune system both in interaction with tumor tissue and in response to radiation injury.

Aim. To evaluate functional activity of peripheral blood neutrophils by chemiluminescent analysis in patients with anorectal cancer after radiotherapy.

Materials and methods. The study included 80 patients with anorectal cancer. Patients received chemo- and radiotherapy with 3D conformal radiotherapy and radiation therapy under visual control, followed by the use of radioprotector and without it. Neutrophil activity determined by chemiluminescent analysis.

Results. In patients with anorectal cancer found maximum spontaneous and induced chemiluminescence acceleration. The chemiluminescence activation index with luminol is lower in patients with anorectal cancer, and with lucigenin shows no differences with the control group. The low luminol chemiluminescence maximum intensity, as well as the decrease in the synthesis of reactive secondary oxygen species in enzymatic systems, is likely regulatory intracellular limitations consequence. After treatment, patients with radioprotector showed a decrease in the number of parameters with statistically significant differences with the control group. Undesirable phenomena associated with sodium deoxyribonucleate therapy not detected in anorectal cancer patients during radiotherapy and subsequent observation period.

Conclusion. During treatment, differences in chemiluminescence parameters suggest that ionizing radiation affects them in patients with anorectal cancer receiving standard chemoradiotherapy. Use of chemoradiotherapy with a radioprotector leads to indirect restoration of cellular functional activity. This is confirmed by luminol-dependent chemiluminescence faster reaching its maximum and a decrease in the number of significant differences from the control group after the start of the drug treatment.

Keywords: anorectal cancer, sodium deoxyribonucleate, radiotherapy, neutrophils, chemiluminescence

For citation: Slepov E.V., Zukov R.A., Serbaeva M.S. et al. Possibility of modification of peripheral blood neutrophils functional activity during chemoradiotherapy in patients with anorectal cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2023;19(1):133–40. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2023-19-1-133-140

Введение

С момента открытия нейтрофилов Жан-Батистом Сенаком в 1749 г. эти клетки подвергались всестороннему изучению. Благодаря их исследованию был открыт фагоцитоз и антибактериальный иммунитет, кроме того за работы, описывающие физиологию нейтрофильных гранулоцитов, И.И. Мечников и П. Эрлих разделили в 1908 г. Нобелевскую премию по физиологии и медицине. Несмотря на богатую историю исследований этих клеток, до сих пор работа с ними представляет ученым большой материал для понимания функционирования иммунной системы [1–3].

Отмечается роль нейтрофилов и в процессах канцерогенеза. Так, инфильтрующие опухоль нейтрофилы имеют повышенную, по сравнению с нейтрофилами в обычных тканях, продолжительность жизни. Они

могут выполнять проопухолевые функции — стимулировать пролиферацию опухолевых клеток или процессы ангиогенеза в опухоли, способствовать метастазированию и подавлять иммунный ответ на перерожденные клетки [4, 5]. С другой стороны, нейтрофилы обладают и противоопухолевой активностью [6, 7]. Исследование функциональной активности этих клеток может способствовать построению более полной картины взаимодействия опухоли и организма и детализировать наше представление о системном противоопухолевом иммунном ответе организма.

Одним из эффективных методов противоопухолевых лечения при различных локализациях опухолевого процесса является применение ионизирующего излучения. Помимо терапевтического эффекта такой вид лечения оказывает серьезное системное влияние

на весь организм пациента, в частности на систему иммунитета. В современной медицине большое внимание уделяется методам предупреждения и купирования лучевых реакций у пациентов при проведении радиотерапевтического лечения [8–10].

Цель исследования — изучение функциональной активности нейтрофилов периферической крови больных аноректальным раком (АРР), получавших радиотерапевтическое лечение.

Материалы и методы

В исследование были включены 80 больных АРР в возрасте от 38 до 70 лет (средний возраст $60,3 \pm 4,9$ года), которые методом случайной выборки разделены на 2 группы.

В 1-ю группу вошли больные раком прямой кишки ($n = 31$), получающие предоперационный курс химиолучевой терапии (ХЛТ) в конформном режиме. На I этапе методами трехмерной конформной лучевой терапии (3D-CRT) и лучевой терапии под визуальным контролем (IGRT) проводили облучение прямой кишки, параректальной клетчатки и внутритазовых лимфатических узлов до суммарной дозы 46 Гр. На II этапе проводили облучение патологического очага с отступом на клинический объем мишени (clinical target volume, CTV) 2 см до суммарной дозы 50–54 Гр. На фоне лучевой терапии назначали ежедневный прием капецитабина в дозе 825 мг/м^2 2 раза в сутки в дни выполнения лучевой терапии.

В 1-й группе пациентам с плоскоклеточным раком анального канала и нижеампулярного отдела прямой кишки ($n = 9$) при выполнении радикального курса ХЛТ на I этапе методами 3D-CRT и IGRT проводили облучение патологического очага, лимфатических узлов малого таза и паховых лимфатических узлов с обеих сторон до суммарной дозы 46 Гр. На II этапе проводили локальное облучение опухоли с отступом на CTV до суммарной дозы 58–60 Гр. На фоне лучевой терапии назначали химиотерапию по схеме: митомицин 10 мг/м^2 в 1-й день, 5-фторурацил 1000 мг/м^2 ежедневно с 1-го по 4-й дни лучевой терапии.

Все пациенты 1-й группы получали радиопротектор дезоксирибонуклеат натрия по 5 мг внутримышечно через день, 15–20 введений. Была использована следующая схема лечения: препарат дезоксирибонуклеат натрия (Деринат®, раствор 15 мг/мл , $5,0 \text{ мл}$) начиная с 1-го дня лучевой терапии вводили внутримышечно перед 1-м сеансом. Курсовое введение препарата продолжалось каждые 48 ч (через сутки), курс состоял из 10 инъекций (1-й курс). После первого курса терапии выполняли перерыв 72 ч. Повторные курсы проводили по аналогичной схеме: 10 внутримышечных инъекций дезоксирибонуклеата натрия в разовой дозе $5,0 \text{ мл}$ раствора 15 мг/мл каждые 48 ч (через сутки) с интервалами между курсами 3 сут (72 ч) вплоть до окончания курсов лучевой терапии. Последний курс введения препарата мог быть неполным, в зависимости от сроков окончания лучевой терапии.

Больные АРР ($n = 40$, в том числе с плоскоклеточным раком 8 пациентов), пролеченные по аналогичной схеме ХЛТ без использования дезоксирибонуклеата натрия, составили 2-ю группу.

Группы были сопоставимы по демографическим и основным клинико-морфологическим характеристикам (табл. 1).

Критериями оценки лучевых реакций у больных АРР на момент окончания лечения служили жалобы пациентов, показатели уровня лейкоцитов и эритроцитов периферической крови, характеристика клеточного осадка мочи.

Спонтанную и индуцированную люминол- и люцигенинзависимую хемилюминесценцию нейтрофилов периферической крови оценивали методом P. De Sole [11]. Определяли следующие параметры: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение (I_{max}), площадь под хемилюминесцентной кривой (S). В качестве индуктора дыхательного взрыва использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл (Sigma, США). Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной хемилюминесценции, оценивали соотношением $S_{\text{инд}}/S_{\text{спон}}$ и определяли как индекс активации.

Таблица 1. Сравнительная характеристика больных аноректальным раком, включенных в исследование

Table 1. Comparative characteristics of patients with anorectal cancer included in the study

| Показатель Characteristic | 1-я группа ($n = 40$) 1 st group ($n = 40$) | 2-я группа ($n = 40$) 2 nd group ($n = 40$) |
|---|---|---|
| Средний возраст ($M \pm m$), лет Mean age ($M \pm m$), years | $60,5 \pm 5,4$ | $60,7 \pm 6,1$ |
| Стадия, n (%): Stage, n (%): | | |
| T2N0M0 | 12 (30,0) | 14 (35,0) |
| T3N0M0 | 14 (35,0) | 14 (35,0) |
| T4N0M0 | 14 (35,0) | 12 (30,0) |

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.0 (Statsoft Inc., США). Нормальность распределения устанавливали с применением критерия Шапиро–Уилка, который показал, что часть рассматриваемых параметров не подчиняется нормальному распределению, в то же время часть параметров имеет гауссово распределение. Поэтому для проверки значимых различий между группами применяли как t-критерий Стьюдента, так и U-тест Манна–Уитни. В связи с этим результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), а также медианы (Me) и интерквартильного разброса. За критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимали $p < 0,05$.

Результаты

У больных АРР определяются значимые различия в показателях хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови относительно группы контроля (табл. 2, 3). Так, обнаружено ускорение выхода на максимум как спонтанной, так и индуцированной зимозаном хемилюминесценции. Причины этого, по всей видимости, различаются для каждого изучаемого люминофора. Для люминола это происходит вследствие снижения максимальных уровней спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. В этом случае достижение определенных показателей происходит сопоставимо в обеих сравниваемых группах. Однако в группе пациентов с АРР при достижении определенного уровня интенсивности хемилюминесценции рост прекращается, тогда как в группе контроля продолжается и достигает кратных показателей (в 3,6 и 1,8 раза для спонтанной и индуцированной

хемилюминесценции соответственно). Наблюдаемые ограничения могут отражать общее истощение метаболических внутриклеточных ресурсов, являющееся следствием хронического заболевания.

Для люцигенина статистически значимые различия в максимально достижимых уровнях как спонтанной, так и индуцированной хемилюминесценции отсутствуют. Ускорение выхода хемилюминесценции на максимум в данных случаях связано, вероятно, с физиологическими внутриклеточными изменениями и обуславливает усиление митохондриального метаболизма. Активация кислородзависимых процессов может отражать интенсивные катаболические процессы, ассоциированные как с внутриклеточным метаболизмом (повышение интенсивности внутриклеточного транспорта, синтез белковых факторов и др.), так и с проявлением функциональной активности клеток (перемещение, фагоцитоз).

Индекс активации для хемилюминесценции с люминолом в 1,77 раза ниже в группе пациентов с АРР, тогда как индекс активации хемилюминесценции с люцигенином не демонстрирует различий с группой контроля (см. табл. 2). Это также подтверждает заявленную гипотезу: кислородный митохондриальный метаболизм фагоцитов не претерпевает изменений, тогда как потенциал синтеза вторичных активных форм кислорода под воздействием первичных активных форм кислорода регулируется цитоплазматическими белковыми системами, где они синтезируются. Из приведенных данных можно сделать вывод о том, что низкий максимальный уровень интенсивности хемилюминесценции с люминолом, как и снижение синтеза вторичных активных форм кислорода в ферментативных системах, является, по всей вероятности, следствием регуляторных внутриклеточных ограничений.

Таблица 2. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови в группе контроля и у больных аноректальным раком до начала лечения, Me (C₂₅; C₇₅)

Table 2. Chemiluminescence activity of neutrophil granulocytes in peripheral blood of control subjects and patients with anorectal cancer prior to treatment, Me (C₂₅; C₇₅)

| Показатель Characteristic | Группа контроля (1) Control group (1) | 1-я группа (2) 1 st group (2) | 2-я группа (3) 2 nd group (3) | p |
|---|---|---|---|---|
| Максимум спонтанной ХЛ с люминолом, о.е. Maximum of spontaneous CL with luminol, r.u. | $1,7 \times 10^5$ ($0,4 \times 10^5$; $2,8 \times 10^5$) | $4,76 \times 10^4$ ($3,25 \times 10^4$; $7,39 \times 10^4$) | $4,47 \times 10^4$ ($4,01 \times 10^4$; $6,57 \times 10^4$) | $p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Время выхода на максимум спонтанной ХЛ с люминолом, с Time to maximum of spontaneous CL with luminol, s | $1,46 \times 10^3$ ($1,33 \times 10^3$; $1,73 \times 10^3$) | $0,92 \times 10^3$ ($0,79 \times 10^3$; $1,13 \times 10^3$) | $0,98 \times 10^3$ ($0,93 \times 10^3$; $1,41 \times 10^3$) | $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$ |
| Площадь под кривой спонтанной ХЛ с люминолом, о.е. Area under curve of spontaneous CL with luminol, r.u. | $5,12 \times 10^8$ ($1,21 \times 10^8$; $8,76 \times 10^8$) | $1,06 \times 10^8$ ($0,73 \times 10^8$; $1,58 \times 10^8$) | $1,14 \times 10^8$ ($1,04 \times 10^8$; $1,44 \times 10^8$) | $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,01$ |

Окончание табл. 2
End of table 2

| Показатель Characteristic | Группа контроля (1) Control group (1) | 1-я группа (2) 1 st group (2) | 2-я группа (3) 2 nd group (3) | p |
|---|---|---|---|---------------------------------------|
| Максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, о.е. Maximum of zymosan-induced CL with luminol, r.u. | $2,86 \times 10^5$ ($1,96 \times 10^5$; $3,9 \times 10^5$) | $1,58 \times 10^5$ ($0,92 \times 10^5$; $1,89 \times 10^5$) | $1,52 \times 10^5$ ($0,98 \times 10^5$; $2,13 \times 10^5$) | $p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Время выхода на максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, с Time to maximum of zymosan-induced CL with luminol, s | $1,21 \times 10^3$ ($1,13 \times 10^3$; $1,4 \times 10^3$) | $0,89 \times 10^3$ ($0,72 \times 10^3$; $0,97 \times 10^3$) | $0,89 \times 10^3$ ($0,86 \times 10^3$; $0,98 \times 10^3$) | $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Площадь под кривой индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, о.е. Area under curve of zymosan-induced CL with luminol, r.u. | $8,76 \times 10^8$ ($4,15 \times 10^8$; $9,93 \times 10^8$) | $2,99 \times 10^8$ ($2,03 \times 10^8$; $3,53 \times 10^8$) | $3,43 \times 10^8$ ($2,19 \times 10^8$; $3,83 \times 10^8$) | $p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,01$ |
| Индекс активации ХЛ с люминолом Activation index for CL with luminol | 0,69 (0,58; 0,91) | 0,40 (0,31; 0,49) | 0,38 (0,30; 0,47) | $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Максимум спонтанной ХЛ с люцигенином, о.е. Maximum of spontaneous CL with lucigenin, r.u. | $3,53 \times 10^4$ ($1,33 \times 10^4$; $5,19 \times 10^4$) | $1,75 \times 10^4$ ($1,03 \times 10^4$; $4,0 \times 10^4$) | $3,79 \times 10^4$ ($1,17 \times 10^4$; $5,29 \times 10^4$) | |
| Время выхода на максимум спонтанной ХЛ с люцигенином, с Time to maximum of spontaneous CL with lucigenin, s | $1,97 \times 10^3$ ($1,82 \times 10^3$; $2,26 \times 10^3$) | $1,34 \times 10^3$ ($1,08 \times 10^3$; $1,78 \times 10^3$) | $1,45 \times 10^3$ ($1,31 \times 10^3$; $2,07 \times 10^3$) | $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Площадь под кривой спонтанной ХЛ с люцигенином, о.е. Area under curve of spontaneous CL with lucigenin, r.u. | $1,31 \times 10^8$ ($0,53 \times 10^8$; $1,75 \times 10^8$) | $0,58 \times 10^8$ ($0,32 \times 10^8$; $1,16 \times 10^8$) | $1,25 \times 10^8$ ($0,40 \times 10^8$; $1,80 \times 10^8$) | $p_{1-2} < 0,05$ |
| Максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, о.е. Maximum of zymosan-induced CL with lucigenin, r.u. | $0,57 \times 10^5$ ($0,44 \times 10^5$; $0,66 \times 10^5$) | $0,3 \times 10^5$ ($0,18 \times 10^5$; $0,59 \times 10^5$) | $0,43 \times 10^5$ ($0,35 \times 10^5$; $0,65 \times 10^5$) | |
| Время выхода на максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, с Time to maximum of zymosan-induced CL with lucigenin, s | $1,74 \times 10^3$ ($1,53 \times 10^3$; $1,86 \times 10^3$) | $1,33 \times 10^3$ ($1,08 \times 10^3$; $1,55 \times 10^3$) | $1,31 \times 10^3$ ($1,13 \times 10^3$; $1,6 \times 10^3$) | $p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,05$ |
| Площадь под кривой индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, о.е. Area under curve of zymosan-induced CL with lucigenin, r.u. | $1,94 \times 10^8$ ($1,6 \times 10^8$; $2,31 \times 10^8$) | $0,8 \times 10^8$ ($0,57 \times 10^8$; $1,71 \times 10^8$) | $1,19 \times 10^8$ ($0,96 \times 10^8$; $2,09 \times 10^8$) | $p_{1-2} < 0,05$ |
| Индекс активации ХЛ с люцигенином Activation index for CL with lucigenin | 0,77 (0,33; 0,89) | 0,63 (0,46; 0,93) | 0,68 (0,33; 1,34) | |

Примечание. Здесь и в табл. 3: ХЛ – хемилюминесценция; о.е. – относительные единицы.
Note. Here and in table 3: CL – chemiluminescence; r.u. – relative units.

Таблица 3. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови в группе контроля и у больных аноректальным раком после химиолучевого лечения (Me (C₂₅; C₇₅))

Table 3. Chemiluminescence activity of neutrophil granulocytes in peripheral blood of control subjects and patients with anorectal cancer after chemoradiotherapy (Me (C₂₅; C₇₅))

| Показатель Characteristic | Группа контроля (1) Control group (1) | 1-я группа (2) 1 st group (2) | 2-я группа (3) 2 nd group (3) | p |
|--|--|--|--|---|
| Максимум спонтанной ХЛ с люминолом, о.е. Maximum of spontaneous CL with luminol, r.u. | 1,7 × 10 ⁵ (0,4 × 10 ⁵ ; 2,8 × 10 ⁵) | 6,88 × 10 ⁴ (5,04 × 10 ⁴ ; 9,69 × 10 ⁴) | 6,52 × 10 ⁴ (3,83 × 10 ⁴ ; 8,04 × 10 ⁴) | p ₁₋₂ < 0,05 |
| Время выхода на максимум спонтанной ХЛ с люминолом, с Time to maximum of spontaneous CL with luminol, s | 1,46 × 10 ³ (1,33 × 10 ³ ; 1,73 × 10 ³) | 0,95 × 10 ³ (0,75 × 10 ³ ; 1,1 × 10 ³) | 0,81 × 10 ³ (0,75 × 10 ³ ; 0,91 × 10 ³) | p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,01 |
| Площадь под кривой спонтанной ХЛ с люминолом, о.е. Area under curve of spontaneous CL with luminol, r.u. | 5,12 × 10 ⁸ (1,21 × 10 ⁸ ; 8,76 × 10 ⁸) | 1,4 × 10 ⁸ (1,01 × 10 ⁸ ; 1,89 × 10 ⁸) | 1,33 × 10 ⁸ (0,93 × 10 ⁸ ; 1,42 × 10 ⁸) | p ₁₋₂ < 0,01 |
| Максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, о.е. Maximum of zymosan-induced CL with luminol, r.u. | 2,86 × 10 ⁵ (1,96 × 10 ⁵ ; 3,9 × 10 ⁵) | 1,66 × 10 ⁵ (1,19 × 10 ⁵ ; 2,29 × 10 ⁵) | 1,60 × 10 ⁵ (0,71 × 10 ⁵ ; 2,01 × 10 ⁵) | p ₁₋₂ < 0,05 |
| Время выхода на максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, с Time to maximum of zymosan-induced CL with luminol, s | 1,21 × 10 ³ (1,13 × 10 ³ ; 1,4 × 10 ³) | 0,82 × 10 ³ (0,74 × 10 ³ ; 0,89 × 10 ³) | 0,91 × 10 ³ (0,74 × 10 ³ ; 0,94 × 10 ³) | p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,01 |
| Площадь под кривой индуцированной зимозаном ХЛ с люминолом, о.е. Area under curve of zymosan-induced CL with luminol, r.u. | 8,76 × 10 ⁸ (4,15 × 10 ⁸ ; 9,93 × 10 ⁸) | 3,18 × 10 ⁸ (2,01 × 10 ⁸ ; 4,06 × 10 ⁸) | 2,88 × 10 ⁸ (1,74 × 10 ⁸ ; 3,30 × 10 ⁸) | p ₁₋₂ < 0,01 p ₁₋₃ < 0,05 |
| Индекс активации ХЛ с люминолом Activation index for CL with luminol | 0,69 (0,58; 0,91) | 0,46 (0,37; 0,60) | 0,47 (0,40; 0,54) | p ₁₋₂ < 0,01 p ₁₋₃ < 0,05 |
| Максимум спонтанной ХЛ с люцигенином, о.е. Maximum of spontaneous CL with lucigenin, r.u. | 3,53 × 10 ⁴ (1,33 × 10 ⁴ ; 5,19 × 10 ⁴) | 3,15 × 10 ⁴ (1,45 × 10 ⁴ ; 5,68 × 10 ⁴) | 2,81 × 10 ⁴ (1,92 × 10 ⁴ ; 4,13 × 10 ⁴) | |
| Время выхода на максимум спонтанной ХЛ с люцигенином, с Time to maximum of spontaneous CL with lucigenin, s | 1,97 × 10 ³ (1,82 × 10 ³ ; 2,26 × 10 ³) | 1,4 × 10 ³ (1,03 × 10 ³ ; 1,71 × 10 ³) | 1,11 × 10 ³ (1,05 × 10 ³ ; 1,32 × 10 ³) | p ₁₋₂ < 0,001 p ₁₋₃ < 0,05 |
| Площадь под кривой спонтанной ХЛ с люцигенином, о.е. Area under curve of spontaneous CL with lucigenin, r.u. | 1,31 × 10 ⁸ (0,53 × 10 ⁸ ; 1,75 × 10 ⁸) | 0,92 × 10 ⁸ (0,42 × 10 ⁸ ; 1,52 × 10 ⁸) | 0,82 × 10 ⁸ (0,61 × 10 ⁸ ; 1,37 × 10 ⁸) | |
| Максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, о.е. Maximum of zymosan-induced CL with lucigenin, r.u. | 0,57 × 10 ⁵ (0,44 × 10 ⁵ ; 0,66 × 10 ⁵) | 0,40 × 10 ⁵ (0,20 × 10 ⁵ ; 0,65 × 10 ⁵) | 0,52 × 10 ⁵ (0,35 × 10 ⁵ ; 0,67 × 10 ⁵) | |
| Время выхода на максимум индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, с Time to maximum of zymosan-induced CL with lucigenin, s | 1,74 × 10 ³ (1,53 × 10 ³ ; 1,86 × 10 ³) | 1,32 × 10 ³ (1,13 × 10 ³ ; 1,57 × 10 ³) | 1,15 × 10 ³ (0,99 × 10 ³ ; 2,02 × 10 ³) | p ₁₋₂ < 0,01 |

Окончание табл. 3
End of table 3

| Показатель Characteristic | Группа контроля (1) Control group (1) | 1-я группа (2) 1 st group (2) | 2-я группа (3) 2 nd group (3) | p |
|---|--|---|---|------------------|
| Площадь под кривой индуцированной зимозаном ХЛ с люцигенином, о.е. Area under curve of zymosan-induced CL with lucigenin, r.u. | $1,94 \times 10^8$ ($1,6 \times 10^8$; $2,31 \times 10^8$) | $1,02 \times 10^8$ ($0,60 \times 10^8$; $1,77 \times 10^8$) | $1,74 \times 10^8$ ($0,86 \times 10^8$; $2,18 \times 10^8$) | $p_{1-2} < 0,05$ |
| Индекс активации ХЛ с люцигенином Activation index for CL with lucigenin | 0,77 (0,33; 0,89) | 0,82 (0,58; 1,09) | 0,52 (0,41; 0,93) | |

Биологическая роль подобного метаболического блока может заключаться в снижении внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала при перенаправлении потока субстратов на анаболический путь.

Данные измерений активности хемилюминесценции у пациентов со злокачественными новообразованиями прямой кишки до начала лечения демонстрируют аналогичные изменения относительно группы контроля как в группе пациентов, которым проводилась стандартная терапия, так и в группе пациентов, которым выполнялась поддерживающая терапия дезоксирибонуклеатом натрия (см. табл. 2). Это подтверждает сопоставимость данных в сравниваемых группах исследования.

После проведенного лечения у пациентов 1-й группы наблюдалось снижение количества показателей, имеющих статистически значимые различия с группой контроля (см. табл. 3). Кроме этого, различия по максимальному выходу спонтанной и индуцированной хемилюминесценции с люминолом и люцигенином, площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции с люминолом и индуцированной хемилюминесценции с люцигенином, фиксируемые во 2-й группе, исчезали у пациентов 1-й группы. Это позволяет подтвердить гипотезу о восстанавливающем действии поддерживающей терапии дезоксирибонуклеатом натрия на фагоцитарное звено иммунитета. Нежелательных явлений, ассоциированных с терапией дезоксирибонуклеатом натрия, у больных АРР в процессе лучевого лечения и последующем периоде наблюдения не зарегистрировано.

Заключение

При анализе данных пациентов с АРР, получающих стандартную ХЛТ, значимых различий до и после лечения относительно группы контроля не выявлено. В то же время обнаруженные статистически значимые различия между временными точками (максимум, площадь под кривой спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции, индекс активации хемилюминесценции с люминолом и люцигенином) позволяют предположить влияние на эти показатели воздействия ионизирующего излучения.

Картина, наблюдаемая у пациентов в процессе использования ХЛТ с радиопротектором (дезоксирибонуклеат натрия), кардинально отличается от описанной выше. Несмотря на то что дезоксирибонуклеат натрия не оказывает непосредственного существенного влияния на фагоциты, протекторный эффект препарата проявляется в опосредованном восстановлении функциональной активности клеток. Это подтверждается как ускорением выхода люминолзависимой хемилюминесценции на максимальные показатели, так и снижением количества статистически значимых различий с группой контроля после начала применения препарата.

Различия, выявленные в группе пациентов с проводимой терапией дезоксирибонуклеатом натрия, позволяют рекомендовать его к применению в качестве поддерживающего лечения у пациентов с АРР при проведении им ХЛТ. Однако для понимания длительности, эффективности протекторного эффекта препарата, а также оценки связанных с терапией побочных реакций необходимы дальнейшие дополнительные исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kay A.B. Paul Ehrlich and the early history of granulocytes. *Microbiol Spectr* 2016;4(4). DOI: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0032-2016
2. Ambrose C.T. The Osler slide, a demonstration of phagocytosis from 1876 Reports of phagocytosis before Metchnikoff's 1880 paper. *Cell Immunol* 2006;240(1):1–4. DOI: 10.1016/j.cellimm.2006.05.008
3. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/summary/>.
4. Mackey J.B.G., Coffelt S.B., Carlin L.M. Neutrophil maturity in cancer. *Front Immunol* 2019;10:1912. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01912
5. Giese M.A., Hind L.E., Huttenlocher A. Neutrophil plasticity in the tumor microenvironment. *Blood* 2019;133(20):2159–67. DOI: 10.1182/blood-2018-11-844548
6. Lecot P., Sarabi M., Pereira Abrantes M. et al. Neutrophil heterogeneity in cancer: from biology to therapies. *Front Immunol* 2019;10:2155. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02155
7. Coffelt S.B., Wellenstein M.D., de Visser K.E. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer* 2016;16(7):431–46. DOI: 10.1038/nrc.2016.52
8. Балдуева И.А., Зозуля А.Ю., Новиков С.Н. Стереотаксическая лучевая терапия в фокусе системных иммунологических эффектов. *Злокачественные опухоли* 2019;9(3s1):23–5. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s1-23-25
9. Baldueva I.A., Zozulya A.Yu., Novikov S.N. Stereotaxic radiotherapy in the light of systemic immunological effects. *Zlokachestvenniye opukholi = Malignant Tumors* 2019;9(3s1):23–5. (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3s1-23-25
10. Schae D., McBride W.H. Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2015;12(9):527–40. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.120
11. Sermeus A., Leonard W., Engels B., De Ridder M. Advances in radiotherapy and targeted therapies for rectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20(1):1–5. DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.1
12. De Sole P. Polymorphonuclear chemiluminescence: some clinical applications. *J Biolumin Chemilumin* 1989;4(1):251–62. DOI: 10.1002/bio.1170040136

Вклад авторов

Е.В. Слепов: анализ полученных данных, написание текста статьи;
Р.А. Зуков: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;
М.С. Сербаяева, А.М. Карапетян, Ю.В. Козина: проведение химиотерапевтического лечения;
О.В. Кашаева, А.Ю. Павленко: организация проведения исследования.

Authors' contributions

E.V. Slepov: analysis of the obtained data, article writing;
R.A. Zukov: developing the research design, article writing;
M.S. Serbaeva, A.M. Karapetyan, Yu.V. Kozina: performing radiotherapy treatment;
O.V. Kashaeva, A.Yu. Pavlenko: organization of the study.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.В. Слепов / E.V. Slepov: <https://orcid.org/0000-0002-3787-3126>
Р.А. Зуков / R.A. Zukov: <https://orcid.org/0000-0002-7210-3020>
О.В. Кашаева / O.V. Kashaeva: <https://orcid.org/0000-0001-9601-7373>
Ю.В. Козина / Yu.V. Kozina: <https://orcid.org/0000-0001-8155-7668>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского». Протокол № 12 от 14.03.2018.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of A.I. Kryzhanovsky Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Dispensary. Protocol No. 12 dated 14.03.2018.

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 28.12.2022. **Принята к публикации:** 30.01.2023.

Article submitted: 28.12.2022. **Accepted for publication:** 30.01.2023.