

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ И СЕРПИНОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ НОСОГЛОТКИ ПРИ ЛУЧЕВОМ ЛЕЧЕНИИ

Джабаров Ф. Р., Розенко Л. Я., Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Колычева Е. В.

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

Оценить результаты лучевого лечения больных раком носоглотки в режиме ускоренного гиперфракционирования и стандартного фракционирования в соответствии с состоянием протеиназ и ингибиторов, взаимодействующих с ними, в динамике лечения. Материалы и методы. Исследовалась плазма крови больных раком носоглотки, пролеченных стандартным фракционированием и в режиме ускоренного гиперфракционирования до начала лечения, по завершении курса и через один месяц после лучевой терапии. Определялась активность калликреина, содержания прекалликреина, кининразрушающего фермента, а также сериновые протеиназы без учёта калликреина. Результаты. Клинически лучшие результаты в группе с ускоренным гиперфракционированием поддерживались восстановлением баланса в системе протеиназ и поддерживались на физиологическом уровне на протяжении периода наблюдения. Сравнительно худшие результаты лечения в группе стандартного фракционирования лучевого лечения отражались в нарушении равновесия протеиназо-ингибиторной системы. Заключение. Активация защитно-приспособительных свойств калликреин-кининовой системы у пациентов, получивших дистанционную гамма-терапию в режиме ускоренного фракционирования, объясняет хорошую переносимость лечения и сравнительно лучшие результаты лечения.

Ключевые слова: рак, носоглотка, лучевое лечение, калликреин-кининовая система.

SOME FEATURES OF THE SERINE PROTEASES AND SERPINS IN PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CANCER RADIATION TREATMENT

Dzhabarov F. R., Rozenko L. Y., Frantsiyants E. M., Kozlova L. S., Kolycheva E. V.

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

To evaluate the results of radiation treatment of patients with nasopharyngeal mode accelerated hyperfractionated and standard fractionation in accordance with the state of proteases and inhibitors that interact with them, in the dynamics of treatment. Materials and methods. Investigated the blood plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma treated with standard fractionation and hyperfractionated accelerated mode before treatment, on completion of the course and one month after radiotherapy. Determined by the activity of kallikrein, prekallikrein content, kininrazrushayuschego enzyme, and serine proteases without kallikrein. Results. Clinically, the best results in the group with accelerated hyperfractionated support restoring balance in proteases and maintained at a physiological level throughout the study period. Relatively worse outcomes in the standard fractionation radiotherapy reflected in disequilibrium-proteinase inhibitor system. Conclusion. Activation of protective and adaptive properties of the kallikrein-kinin system in patients receiving remote gamma-therapy during fast fraksioniovaniya explains a good tolerability and relatively better outcomes.

Key words: cancer, nasopharynx, radiation treatment, the kallikrein-kinin system.

Введение

Лечение рака носоглотки (РН) остается актуальным вопросом современной онкологии в связи с тем, что 85–90 % пациентов с данной патологией поступают на специализированное лечение в запущенных стадиях (III–IV) с 2-х сторонним поражением лимфатических узлов у каждого второго пациента [3, 7]. Дистанционная гамма-терапия (ДГТ) используется как радикальный, так и паллиативный способ лечения пациентов с постоянным совершенствованием вариантов фракционирования разовой очаговой дозы (РОД) в стремлении улучшить

результаты лечения [1,4,6]. Дополнительное использование цитостатиков способствует улучшению отдаленных результатов лечения, при сохранении характерной для них токсичности с усилением лучевых реакций [2]. При всех современных возможностях и разработанных подходах частота отдаленного метастазирования достигает 35 %, вероятность рецидивирования возрастает до 40–70 % [10].

Калликреин-кининовая система (ККС) организма обеспечивает универсальную адаптивную реакцию, ответственную за состояние гистогематических барьеров, реологию крови, состояние сосудов микроциркуляторного русла [5,8,9]. Вопросы динамики составляющих и основных параметров ККС при РН и тем более при отдельных вариантах ДГТ практически не изучены.

Целью работы являлось исследование показателей ККС, сериновых протеиназ и серпинов при различных режимах фракционирования ДГТ больных РН.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были 29 пациентов с местно-распространенным РН (T₁₋₄N₂₋₃M_{0-x}). Среди пациентов – мужчин (89,7 %), превалировала возрастная категория 50–59 лет (79,3 %). Морфологически преобладала носоглоточная недифференцированная структура рака – 86,2 %. Больные составили 2 сопоставимые по основным клиническим параметрам группы исследования. Из них в основную группу вошли 15 больных, которым проводилась ДГТ на органы мишени первичного очага и зон регионарного метастазирования общепринято расщепленным курсом в режиме ускоренного гиперфракционирования РОД 1,5+1,5 Гр с интервалом 5 часов до суммарной очаговой дозы (СОД) 65,0±5,2 Гр. В контрольной группе было 14 человек, подвергавшиеся методически аналогичной ДГТ в конвенциональном режиме РОД по 2 Гр до СОД 64,0±4,8 Гр.

В плазме крови больных обеих групп исследованы ККС, сериновые протеиназы и ингибиторы на этапах до и непосредственно после ДГТ, а также через 1 месяц после всего лечения, т.е. перед этапом адьювантных курсов планируемой полихимиотерапии.

В цитратной плазме крови всех пациентов проведено определение компонентов калликреин-кининовой системы (ККС): активности калликреина (К), содержания прекалликреина (ПК), активности кининразрушающего фермента – карбоксипептидазы N (КОП), а также активности сериновых протеиназ без учёта калликреина (АСП). Активность универсальных ингибиторов протеолиза альфа-1-протеиназного ингибитора (α -1ПИ) и альфа-2-макроглобулина (α -2М) исследовалась унифицированными методами Нартиковой В. Ф. и Пасхиной Т. С., 1979.

При статистической обработке результатов вычисляли значение средней величины и стандартную ошибку показателя средней. Достоверность разницы между значениями опре-

деляли по методу Стьюдента – Вилкоксона – Манна – Уитни. Использовались критерии χ^2 и ϕ -преобразования. Нижним порогом достоверности считался уровень 0,05.

Результаты лечения и обсуждение. Контроль регрессионной эффективности оценивался с помощью методически идентичных приемов обследования, проведенного до начала лечения и по завершении его с использованием ретроградной эпифарингоскопии, спиральной рентген-компьютерной томограммы головы и шеи и ультразвукового сканирования лимфатического коллектора шеи.

Из 15 пациентов основной группы, получавших ДГТ с ускоренным гиперфракционированием, у 11 больных (73,3 %) на момент окончания лучевого лечения наблюдался полный регресс опухоли, у 1 больного (14,3 %) оставались единичные метастатически измененные шейные лимфатические узлы, которые регрессировали в течение 1 месяца. У 4 больных (26,6 %) по окончании всего курса лечения в лимфатических узлах на шее отмечалось остаточное увеличение с гиперплазией по сонографическим данным.

Из 14 пациентов контрольной группы, получавших ДГТ с классическим фракционированием, у 8 (57,1 %), была установлена регрессия первичного очага и регионарных метастазов. При этом у 4 – зафиксирована полная регрессия первичного очага и метастатически измененных лимфоузлов, у 4 – частичная ≥ 50 %. У 6 пациентов (42,9 %) – метастазы в регионарных лимфоузлах ещё сохранялись на момент завершения облучения.

Что касается лабораторных показателей, то в плазме крови больных контрольной группы после окончания лечения активность К увеличивалась на 39,7 %, содержание ПК оставалось без изменений, по сравнению с исходным фоном, активность КОП возрастала на 26,4 %, АСП не изменялась. Активность α -1ПИ снижалась на 37,8 %, а α -2М – оставалась практически без изменений, – в целом это свидетельствовало об уменьшении ингибиторной ёмкости крови и расценивалось как неблагоприятный признак. Через 1 месяц, во время контрольного осмотра, активность К увеличилась на 57,1 %, содержание ПК увеличилось на 39,5 %, что могло бы стать хорошим признаком, но активность КОП при этом снижалась в 3 раза по отношению к периоду окончания лечения, т.е. эффект её повышения после ДГТ с классическим фракционированием оказался нестойким, и биологическая активность образующихся свободных кининов фактически не контролировалась. В результате массивного освобождения кининов в ткани накапливаются токсичные окислы азота, усиливающие ацидоз и блокирующие активность ингибиторов [5], что имеет непосредственное влияние на активность и протеиназо-ингибиторный баланс крови. АСП в этот срок была выше, чем после лечения на 62,1 %, что на фоне достоверного понижения активности ингибиторов (α -1ПИ – на 21 % и α -2М – на 52,7 %) свидетельствовало о продолжении протеолитической агрессии и согласовывалось с результатами клинического обследования.

Исследование ККС и других сериновых протеиназ (табл. 1) показало, что после ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования, в плазме крови пациентов основной группы снижалась активность К в 2,7 раза, возрастало содержание ПК на 33,3 % и активность КОП в 2,1 раза, АСП снижалась на 76,1 %, что соответствовало норме. Активность α -1ПИ оставалась стабильно повышенной, как и до лечения, α -2М – достоверно увеличивалась на 22 %. Через 1 месяц, во время контрольного осмотра, при изучении тех же показателей обнаружено, что в плазме крови больных основной группы активность К, КОП, содержание ПК оставались практически без изменений ($p < 0,05$), по отношению к периоду окончания лечения. Это свидетельствовало о стабилизации активности ККС и АСП на физиологическом уровне, мобилизации антипротеолитического потенциала за счёт эндогенных ресурсов организма: АСП достоверно понижалась на 19,6 % ($p \leq 0,01$), оставаясь в пределах границ нормы, активность α -1ПИ оставалась без изменений, а α -2М – увеличивалась на 64 %. Полученные данные рассматривались как положительные, поскольку возрастание ингибиторной ёмкости крови обеспечивало необходимый контроль протеолитических процессов, это подтверждено и клиническим обследованием.

Таблица 1

Активность протеиназ и серпинов в плазме крови больных раком носоглотки
в динамике лучевого лечения

Примечания: ¹ – различия достоверны по сравнению с донорами ($p < 0,01$),
² – различия достоверны по отношению к предыдущему сроку исследования ($p < 0,01$),
³ – различия достоверны по сравнению с данными контрольной группы ($p < 0,01$).

Взаимосвязь показателей	Здоровые доноры	До лечения		После лечения		Через 1 месяц после лечения	
		Группы наблюдения					
		контроль	основная	контроль	основная	контроль	основная
ПК\К	7,4±0,4	2,2±0,1 ¹	1,9±0,1 ¹	1,4±0,1 ^{1,2}	7,0±0,3 ^{2,3}	1,3±0,1 ¹	7,1±0,4 ³
К\КОП	59,3±4,9	233±10,1 ¹	314±13,7 ¹	257±9,5 ¹	53,7±2,6 ^{2,3}	1220±42,1 ^{1,2}	56,2±3,3 ³
К\б-2М	11,3±0,8	79,2±3,4 ¹	90,8±3,8 ¹	103±3,8 ^{1,2}	27,3±0,9 ^{1,2,3}	247±9,3 ^{1,2}	15,9±0,9 ^{1,2,3}
АСП\ α -2М	69,0±5,7	435±18,9 ¹	449±19,5 ¹	385±14,2 ^{1,2}	209±7,5 ^{1,2,3}	893±27,8 ^{1,2}	107±6,3 ^{1,2,3}
АСП\ α -1ПИ	10,5±0,6	12,9±0,6 ¹	13,8±0,6 ¹	16,9±0,6 ^{1,2}	7,4±0,3 ^{1,2,3}	31,0±1,8 ^{1,2}	5,8±0,3 ^{1,2,3}

Несмотря на многообразие методов лечения опухолей головы и шеи классическая лучевая терапия играет существенную роль, а при некоторых формах является основным методом лечения. Большинство опухолей носоглотки часто и рано метастазирует в регионарные лимфатические узлы, однако, несмотря на значительное локорегионарное распространение РН, современная лучевая терапия в большинстве случаев приводит к полной регрессии опу-

холи. Тем не менее первичные радиохимические реакции, вызывающие изменение структуры молекул, ведут к нарушению биохимических процессов в органах и тканях. Это выражается в расстройстве тканевого дыхания, изменении действия ферментных систем, извращении синтеза белков и т.д.

Клинический эффект был хорошо выражен у больных обеих наблюдаемых групп, наблюдались и осложнения воспалительного характера, но у пациентов основной группы они проявлялись в достоверно меньшей степени ($p \leq 0,05$). Результаты исследования ККС, сериновых протеиназ, серпинов и расчёт коэффициентов их взаимодействия в плазме крови больных через 1 месяц после ДГТ представлены в таблицах 1 и 2 в сравнении с исходным фоном и окончанием лечения. Анализ коэффициентов соотношений взаимосвязанных компонентов весьма информативен, т.к. помогает оценить равновесие протеиназо-ингибиторного комплекса и показывает доленое участие каждого исследуемого показателя в их взаимодействии (табл. 2). Так, коэффициенты взаимодействия в рамках ККС (ПК/К и К/КОП) свидетельствуют об искажении нормальной активности системы в целом, поскольку через 1 месяц после окончания классической ДГТ первый практически не изменился, а второй увеличился в 4,8 раза. Протеиназо-ингибиторное равновесие также сдвинулось в сторону неконтролируемого протеолиза: $K\alpha$ -2М, АСП α -2М, АСП α -1ПИ были увеличены в 2,4; 2,3 раза и на 83,4 % соответственно.

Таблица 2

Оценка результатов лучевого лечения больных раком носоглотки
по соотношению протеиназ и ингибиторов в плазме крови больных РН

Показатели	Здоровые доноры	До лечения		После лечения		Через 1 месяц после лечения	
		Группы наблюдения					
		контроль	основная	контроль	основная	контроль	основная
К мед\мл	47,79±3,4	82,88±5,9 ¹	109,1±5,7 ¹	115,7±5,9 ^{1,2}	40,0±2,7 ^{2,3}	181,8±7,9 ^{1,2}	38,18±2,1 ^{1,3}
ПК мед\мл	352,0±14,4	185,4±8,4 ¹	210,9±9,6 ¹	163,0±7,7	281,2±12,2 ^{2,3}	227,3±8,1 ^{1,2}	270,4±11,8 ³
КОП мкМ\мл	0,806±0,01	0,356±0,02 ¹	0,348±0,02 ¹	0,450±0,01 ^{1,2}	0,745±0,03 ^{2,3}	0,149±0,01 ^{1,2}	0,680±0,03 ³
АСП мЭЕ\мл	292,0±13,1	454,6±22,7 ¹	539,0±25,7 ¹	433,6±18,4 ¹	306,0±14,6 ^{2,3}	658,2±28,6 ^{1,2}	255,9±16,1 ^{2,3}
α -1ПИ ИЕ\мл	27,81±1,0	35,39±1,5 ¹	39,05±1,9 ¹	25,69±1,3 ²	41,56±1,8 ^{1,3}	21,24±1,01 ^{1,2}	43,84±1,8 ³
α -2М ИЕ\мл	4,232±0,1	1,046±0,1 ¹	1,201±0,1 ¹	1,125±0,1 ¹	1,465±0,1 ^{1,2,3}	0,737±0,04 ^{1,2}	2,402±0,1 ^{1,2,3}

Примечания: ¹ – различия достоверны по сравнению с донорами ($p < 0,01$),

² – различия достоверны по отношению к предыдущему сроку исследования ($p < 0,01$),

³ – различия достоверны по сравнению с данными контрольной группы ($p < 0,01$).

Ни один из вспомогательных коэффициентов соотношения в плазме крови больных контрольной группы не изменился в лучшую сторону, наоборот, дисбаланс парных показателей усилился (табл. 2), что рассматривалось как свидетельство осложнения воспалительно-

го характера вследствие лучевого повреждения тканей. Исходя из полученных результатов, даже при успешном лечении рака носоглотки, приведённая картина считалась неблагоприятной, поскольку сохранялась опасность возобновления злокачественного процесса, соответствовала объективным клиническим показателям и требовала дополнительной медикаментозной коррекции.

В плазме крови больных основной группы через 1 месяц после окончания лечения показатели состояния ККС (К, ПК, КОП), а также АСП оставались на уровне нормальных величин, активность α -1ПИ сохранялась стабильно повышенной, а α -2М была значительно повышена по отношению к предыдущему сроку обследования (табл. 1). Эта динамика считалась положительной, свидетельствующей о стабилизации активности ККС и АСП на физиологическом уровне, а также мобилизации эндогенного антипротеолитического потенциала, что подтверждено коэффициентами баланса взаимосвязанных показателей.

Так, в плазме крови больных основной группы коэффициент «предшественник-фермент» $\text{ПК} \backslash \text{К}$ был в этот срок выше в 5,5 раз, чем таковой в группе контроля, а $\text{К} \backslash \text{КОП}$ – в 21,7 раза ниже, причём оба коэффициента основной группы соответствовали норме. Баланс исследуемых протеиназ с ингибитором α -2М в коэффициентах $\text{К} \backslash \alpha$ -2М и $\text{АСП} \backslash \alpha$ -2М не достигал нормы из-за недостаточности α -2М, но был во много раз ближе к ней, чем аналогичные коэффициенты в плазме крови больных из группы контроля: в 15,5 раз и 8,4 раза соответственно. Баланс активности сериновых протеиназ с α -1ПИ ($\text{АСП} \backslash \alpha$ -1ПИ) в плазме крови пациентов основной группы был в 5,4 раза ниже такового в группе контроля (табл. 2).

Величина коэффициента $\text{АСП} \backslash \alpha$ -1ПИ основной группы – на 81 % ниже нормы – была связана с сохранением достоверно высокой активности ингибитора при нормальной активности сериновых протеиназ (табл. 1) и расценивалась как благоприятный признак. Блокируя увеличение активности протеиназ, обеспечивая их взаимодействие с рецепторами, оба ингибитора являются эффективными протекторами клеток от протеолитической дегградации [5]. В условиях онкологической ситуации осуществление такого контроля является жизненно важным условием. Эти данные рассматривались как положительные, поскольку демонстрировали сохранение равновесия во взаимодействии изучаемых показателей или устойчивое стремление к нему, свидетельствовали о мобилизации эндогенных защитных ресурсов, в результате проведённой ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования и согласовывались с объективной клинической картиной, а также с субъективным улучшением самочувствия пациентов. Это означало, что активность сериновых протеиназ и ККС плазмы крови больных основной группы теперь была направлена на непосредственное выполнение своих функций: санацию биологических сред организма, мобилизацию защиты и репарации. Ингибиторы α -2М и α -1ПИ сохраняли достоверно повышенную активность по сравнению с периодом до

лечения, ограничивая активность трипсिनных протеиназ и калликреина, на уровне нормы. Анализ полученных результатов и сравнение их с клиническими наблюдениями позволил сделать вывод о стабилизации восстановленного ранее равновесия между большинством изучаемых показателей (табл. 2), что, несомненно, являлось преимуществом, обусловленным применением ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования.

Заключение

Таким образом, ККС, сериновые протеиназы и серпины плазмы крови обеих групп поначалу оказались вовлечёнными в процессы миграции и пролиферации опухолевых клеток, способствуя повышению проницаемости гистогематических барьеров, мембранных структур, развитию отека и освобождая факторы роста. Изменения в функционировании изучаемых показателей, вместо активации защитно-приспособительных систем, поддерживали их патологический баланс, прямо и косвенно способствующий дальнейшему росту и метастазированию злокачественной опухоли. Однако после проведённой ДГТ в различных режимах (классическом и ускоренного гиперфракционирования) обнаружены различия не только в клинической картине, но и балансе изученных компонентов ККС и важнейших ингибиторов.

В плазме крови больных контрольной группы, на фоне более тяжёлых осложнений ДГТ, установленные высокая активность К, АСП, сниженная активность серпинов являются отражением процессов, происходящих в ткани, и предполагают активное участие сериновых протеиназ в клеточных и ферментативных взаимодействиях, направленных на разрушение межклеточного матрикса, пролиферацию опухолевых и миграцию эндотелиальных клеток.

Улучшение результатов лечения и лабораторных показателей в плазме крови больных основной группы, при менее выраженных осложнениях, обусловлено применением ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования.

Список литературы

1. Алиев Б. М., Гарин А. М., Чуприк-Малиновская Т. П. Рак носоглотки: опыт лучевого и химиолучевого лечения // Вестник ОН АМН России. – 1995. – №1. – С. 26-32.
2. Андреев В. Г., Мардынский Ю. С., Барышев В. В., Подлесных Н. И., Панкратов В. А., Рожнов В. А. Сравнительная оценка химиолучевой терапии больных раком носоглотки в зависимости от режима фракционирования дозы и методик химиотерапии // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 4 (34). – С. 12-17.
3. Белоусова Н. В., Поддубный Б. К., Унгиадзе Г. В., Кондратьева Т. Т., Архипов В. В., Пробатова Н. А., Гурцевич В. Э., Степина В. Н., Щербак Л. Н., Михайлова Н. А. Современная диагностика рака носоглотки // Соврем. онкол. – 2000. – Т. 2, N 3. – С. 3-11.

4. Бойко А. В. и соавт. Нетрадиционное фракционирование дозы. – Москва, 2004.
5. Зорин Н. А., Зорина В. Н., Зорина Р. М. Роль альфа-2-макроглобулина при онкологических заболеваниях // Вопросы онкологии. – 2004. – Т. 50, № 5. – С. 515-519.
6. Каримова Н. М., Гафур-Ахунов М. А., Каххаров Ж. Н., Ким Л. В., Хайитов Ф. Э. Лучевая терапия злокачественных опухолей носоглотки у детей // Укр. радиол. журнал. – 2009. – № 3. – С. 296-298.
7. Киселева Е. С. Лучевая терапия злокачественных опухолей. – М., 1996. – 253 с. – (Руководство для врачей).
8. Козлова Л. С., Колычева Е. В. Трипсиноподобные протеиназы, кининовая система и основные ингибиторы плазмы крови при раке носоглотки // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2011. – № 6. – С.105-110.
9. Яровая Г. А. Калликреин – кининовая система: новые факты и концепции (обзор). http://www.informnauka.ru/rus/2008/2008-06-06-8-163_r.htm
10. Lassen U. et al. Long-term survival in small-cell lung cancer: posttreatment characteristics in patients surviving 5 to 18+ years - an analysis of 1,714 consecutive patients // J. of Clin. Oncol. – 2005. – 13 (5). – P. 1215–1220.

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.