

УДК 618.146-006.6-036.87-033,2:615-32.277.3/[37]-074:612.015

ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Гуськова Е.А., Никитина В.П., Франциянц Е.М., Горошинская И.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»

Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: rnioi@list.ru

Проведен анализ значимости ряда показателей, характеризующих интенсивность свободнорадикальных процессов, выраженность оксидативного стресса, степень эндогенной интоксикации, в прогнозе и оценке эффективности лечения больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки. Полученные данные сопоставлены с результатами лечения 27 больных с генерализованным раком шейки матки. Метод противоопухолевого воздействия включал комбинацию аутогемохимиотерапии и аутогемоиммунотерапии препаратами цитокинового ряда – интерлейкина – 2 и интерферона – альфа. Отмечена взаимосвязь изученных показателей со степенью регрессионного эффекта, что отражает чувствительность рецидивного и метастатического рака шейки матки к проводимой терапии и позволяет использовать фоновые значения пероксинитрита и нитрозилгемоглобина в оценке эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: рак шейки матки, интерлейкин–2, интерферон–альфа, регрессионный эффект, пероксинитрит, нитрозилгемоглобин

PROGNOSTIC FACTORS AND EVALUATE THE EFFECTIVENESS TREATMENT OF GENERALIZED CERVICAL CANCER

Guskova E.A., Nikitina V.P., Frantziyantz E.M., Goroshinskaya I.A.

Federal state budget institution «Rostov research oncologic institute»

Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov on Don, e-mail: rnioi@list.ru

The analysis of the significance of a number of indicators characterizing the intensity of free-radical processes, the severity of oxidative stress, the degree of endogenous intoxication in the prediction and assessment of the effectiveness of treatment of patients with recurrent and metastatic cancer of the cervix. The obtained data are compared with the results of treating 27 patients with generalized cervical cancer. The method of cancer treatment includes a combination of autochemotherapy and autohemotherapy using cytokine series drugs: interleukin – 2 and interferon – alpha. Marked interrelation of the parameters studied with a degree of effect on tumor regression reflects the sensitivity of recurrent and metastatic cervical cancer to therapy. This allows the use of background levels of peroxynitrite and nitrosyl hemoglobin in assessing the effectiveness of the treatment.

Keywords: cervical cancer, interleukin-2, interferon-alpha, regression effect, peroxynitrite, nitrosyl hemoglobin

Введение в клиническую практику инновационных методов лечения рака шейки матки несколько улучшило ситуацию для больных, тем не менее, общий ответ на такое лечение остается умеренным. При распространенном раке шейки матки (РШМ) каждая вторая больная погибает в течение первых двух лет. Основными причинами неудач лечения являются высокая частота рецидивов и метастазов, относительная резистентность плоскоклеточного гинекологического рака к большинству цитостатиков и их побочные эффекты. Рассматриваются альтернативные подходы к прерыванию карцерогенеза, которые могут быть синергетическими со стандартными методами лечения. На передовом рубеже исследований – таргетные молекулярные методы лечения, которые, как ожидается, в противовес традиционным химиопрепаратам, повысят эффективность лечения, не ухудшая профиля токсичности [8].

В этой связи весьма актуален на наш взгляд поиск объективных критериев оценки эффективности и прогноза противоопухолевого лечения.

В литературе активно обсуждается роль оксида азота (NO) при опухолевом росте. Показана возможность как проопухолевого, так и противоопухолевого его действия [10]. В настоящее время несомненно значение оксида азота (NO) как универсального регулятора клеточного и тканевого метаболизма при опухолевом росте. Система оксида азота реализует свое действие не только через NO-радикал, но и через молекулы NO-производных [2]. Изучена взаимосвязь между продукцией гамма-интерферона Т-клетками и количеством оксида азота, вырабатываемого различными видами клеток, в том числе и опухолевыми. Макрофаги, стимулированные гамма-интерфероном, синтезируют NO, что обуславливает их цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток [5]. В то же время показана способность клеток опухоли Эрлиха отвечать на гамма-интерферон значительным повышением выработки оксида азота. При этом, несмотря на высокий уровень интерферона и оксида азота, опухоль Эрлиха прогрессивно развивается, приводя к гибели экспериментальных животных [1].

Включение интерферона в схему лечения больных лимфомой Ходжкина способствует снижению степени выраженности эндогенной интоксикации, препятствует накоплению пероксинитрита, продукта превращения оксида азота, и снижению скорости свободно-радикальных процессов [7].

Цель исследования заключалась в изучении значимости ряда биохимических показателей в прогнозе и оценке эффективности применения комбинации аутогемохимиотерапии и аутоиммунотерапии с использованием рекомбинантного интерлейкина-2 и интерферона-альфа (АГХИТ) у больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки.

Исследовали интенсивность H_2O_2 -люминолзависимой хемилюминесценции, уровень пероксинитрита ($ONOO^-$) и производных оксида азота: нитрозогемоглобина, нитрозоглютамина и нитротирозина, определяемых спектрометрически, оксидазную активность церулоплазмينا, содержание веществ средней молекулярной массы – MCM_{254} и MCM_{280} , уровень общей и эффективной концентрации альбумина – ОКА и ЭКА, резервную связывающую способность альбумина по отношению $ЭКА/ОКА \cdot 100\%$. Расчетным путем определяли коэффициент интоксикации, отражающий баланс между накоплением и связыванием токсических лигандов по формуле: $KI_{MCM/ЭКА} = (MCM_{254}/ЭКА) \cdot 1000$.

Исследования проведены у 27 больных с рецидивной и генерализованной формой РШМ до и после АГХИТ. В зависимости от степени регрессионного эффекта проводимого противоопухолевого воздействия больные были распределены на две подгруппы: 1-я – с регрессией опухоли на 50–80% (55,6% больных) и 2-я – со стабилизацией процесса (44,4%). Контрольную группу составили 26 женщин аналогичного возраста без онкологической патологии. Результаты представлены в табл. 1 и 2.

До лечения у больных РШМ отмечалось увеличение интенсивности хемилюминесценции в 2,95 раз и практически двукратное повышение уровня пероксинитрита в сравнении с контрольной группой (табл. 1). Уровень нитрозил-гемоглобина в сравнении со значениями у здоровых повышен менее значительно. Обращает внимание снижение связывающей способности альбумина и увеличение концентрации молекул средней массы, приводящее к нарастанию коэффициента интоксикации в 2 раза. Отмеченное на этом фоне у данного контингента больных повышение содержания церулоплазмينا – основного белкового антиоксиданта плазмы крови, в 1,7 раза по сравнению с контрольными значениями ($1,692 \pm 0,208$ мкМ/л

и $0,995 \pm 0,054$ мкМ/л соответственно), носит, вероятно, защитный адаптивный характер (табл. 1). Существенный вклад в выявленные нами метаболические нарушения у больных с рецидивами и метастазами РШМ вносит, по-видимому, интенсификация свободнорадикальных процессов. Известно, что окислительная модификация белковых компонентов мембраны вследствие интенсификации свободнорадикальных процессов сопровождается изменениями организации мембраны, в том числе и нарушением подвижности мембранных полипептидов, повышенной чувствительностью белков к протеолиту и конформационным изменениям [4].

По данным литературы активация свободнорадикального окисления при неопластическом процессе приводит к накоплению в организме больных эндогенных липопероксидов, продуктов деградации белковых молекул, что вызывает блокирование или аллостерические изменения центров связывания на молекуле альбумина, снижение его комплексообразующей способности и транспортной функции [9].

Согласно полученным нами данным, у больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки наблюдается выраженное изменение показателей, отражающих степень эндогенной интоксикации: увеличено содержание молекул средней массы на 27,5% (MCM_{254}) и на 53,7% (MCM_{280}), эффективная концентрация альбумина снижена на 33,3%, а его связывающая способность – на 27,8% (табл. 2). Снижение ЭКА у обследуемой категории больных привело к почти двукратному увеличению коэффициента интоксикации, который составил $12,5 \pm 1,2$ (в контроле – $6,94 \pm 0,312$), что свидетельствует о глубоком дисбалансе между накоплением и связыванием токсических лигандов.

Анализ непосредственных результатов АГХИТ больных РШМ был сопоставлен с результатами биохимических исследований. У больных с эффектом от лечения (регрессия) отмечалось снижение уровня пероксинитрита в 2 раза, которое достигло значений в группе без онкопатологии, на фоне заметного повышения антиоксидантной активности церулоплазмينا (табл. 1). Наблюдаемое при этом резкое увеличение интенсивности хемилюминесценции (на 51,7% от исходных значений) и нарастание концентрации средномолекулярных продуктов, является, по-видимому, отражением интенсивного распада опухолевого субстрата. Напротив, больные РШМ со стабилизацией опухолевого процесса характеризовались снижением интенсивности хемилюминесценции (на 54,0% от исходных значений), что ассоциируется с менее интенсивным распадом опухолевого субстрата.

Таблица 1

Интенсивность хемилюминесценции, содержание NO- производных и активность церулоплазмينا у больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки до и после АГХИТ

Исследуемые показатели		Группы			
		Контрольная	РШМ до АГХИТ	РШМ после АГХИТ (регрессия)	РШМ после АГХИТ (стабилизация)
Интенсивность хемилюминесценции, имп. за 6 с		3310 ± 219	9787 ± 2144,0 p < 0,001	14846 ± 2333,2 p < 0,001 p ₁ < 0,001	4472 ± 202,5 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
NO-гемоглобин	418 _{нм}	9,43 ± 0,94	12,54 ± 1,19 0,05 < p < 0,1	11,56 ± 1,7 p > 0,1 p ₁ > 0,1	14,7 ± 1,4 p < 0,01 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,1
	545 _{нм}	21,93 ± 1,28	30,46 ± 8,28 p < 0,05	29,78 ± 2,91 p < 0,02 p ₁ > 0,1	24,57 ± 1,9 p > 0,1 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,02
Пероксинитрит		85,51 ± 5,31	156,44 ± 25,0 p < 0,001	80,62 ± 2,87 p > 0,1 p ₁ < 0,001	141,5 ± 7,62 p < 0,001 p ₁ > 0,1 p ₂ < 0,001
NO-глутатион		27,22 ± 1,43	24,08 ± 2,12 p < 0,02	27,01 ± 1,5 p > 0,1 p ₁ < 0,02	25,86 ± 1,71 p > 0,1 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,1
NO-тирозин		5,06 ± 0,49	7,10 ± 2,20 p > 0,1	2,82 ± 0,48 p < 0,01 p ₁ < 0,001	2,19 ± 0,18 p < 0,01 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1
Активность церулоплазмينا, мкМ/л		0,995 ± 0,054	1,692 ± 0,208 p < 0,01	2,158 ± 0,189 p < 0,001 p ₁ < 0,01	1,256 ± 0,194 p > 0,1 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,01

Примечание. p – значимость различий по сравнению с контрольной группой; p₁ – значимость различий по сравнению со значениями до АГХИТ; p₂ – значимость различий по сравнению со значениями в группе больных РШМ с регрессией опухоли.

Обращает внимание, что антиоксидантная активность церулоплазмينا у больных с высокой эффективностью АГХИТ превышала таковую у больных со стабилизацией процесса на 71,8% и была достоверно выше значений у здоровых, что, по-видимому, препятствовало избыточному образованию высокотоксичных продуктов свободно-радикальных реакций. В частности, уровень пероксинитрита, образующегося в результате взаимодействия оксида азота с супероксидным анион-радикалом, у больных с выраженной регрессией опухоли был на 75,5% ниже, чем у больных со стабилизацией процесса (табл. 1). Как следствие, при эффективном лечении коэффициент интоксикации был почти вдвое ниже (на 76,6%) по сравнению с больными со стабилизацией процесса (10,21 ± 0,4 и 18,03 ± 2,27 соответственно) за счет более высокой эффективной концентрации альбумина

и его связывающей способности (выше на 71,1% и 79,7%, чем у больных со стабилизацией) (табл. 2). Отсутствие положительной динамики сочеталось с повышенным уровнем пероксинитрита, снижением активности церулоплазмينا, резким увеличением коэффициента интоксикации, почти вдвое превышающим значения у больных с эффектом от лечения за счет снижения связывающей способности альбумина. Можно предположить, что указанные нарушения – следствие дальнейшей активации свободнорадикальных процессов.

Для изучения причинно-следственных отношений между исследуемыми показателями крови и состоянием больных, а также для определения наиболее значимых из них в оценке эффективности АГХИТ и прогнозе течения заболевания был проведен дисперсионный анализ степени влияния ряда факторов на результативный

признак [3]. Взаимосвязь выраженности регрессионного эффекта от проводимого нами противоопухолевого воздействия с изменением значений изученных показателей подтверждена результатами дисперсионного анализа [6]. Связывающую способность альбумина, содержание пероксинитрита, содержание NO-тирозина, содержание NO-гемоглобина можно рекомендовать к применению в практической медицине при прогнозировании течения заболевания, а так же оценке эффективности противоопухолевого лечения.

резко сниженном уровне пероксинитрита и увеличенном содержании нитрозилгемоглобина можно ожидать отсутствие или слабо выраженный эффект и, возможно, пересмотреть схему лечения. Напротив, изначально увеличенный или нормальный уровень пероксинитрита и отсутствие увеличения нитрозилгемоглобина позволяет прогнозировать выраженную регрессию опухоли после проведения противоопухолевой терапии. При этом у больных в процессе высоко эффективного лечения имеет место снижение уровня пероксинитрита,

Таблица 2

Показатели эндогенной интоксикации у больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки до и после АГХИТ

Исследуемые показатели	Группы			
	контрольная	РШМ до АГХИТ	РШМ после АГХИТ (регрессия)	РШМ после АГХИТ (стабилизация)
ОКА, г/л	45,33 ± 0,77	42,1 ± 1,5 0,05 < p < 0,1	46,18 ± 1,86 p > 0,1 p ₁ > 0,1	47,54 ± 1,32 p > 0,1 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,1
ЭКА, г/л	43,01 ± 1,1	28,7 ± 1,6 p < 0,001	33,66 ± 1,76 p < 0,001 p ₁ < 0,05	19,67 ± 2,27 p < 0,001 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,01
ССА, %	94,8 ± 2,01	68,5 ± 3,2 p < 0,001	74,0 ± 3,43 p < 0,001 p ₁ < 0,1	41,19 ± 4,36 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
МСМ ₂₅₄ , усл. ед. экс.	0,273 ± 0,005	0,348 ± 0,027 p < 0,01	0,339 ± 0,01 p < 0,001 p ₁ > 0,1	0,327 ± 0,014 p < 0,001 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,1
МСМ ₂₈₀ , усл. ед. экс.	0,203 ± 0,005	0,312 ± 0,032 p < 0,001	0,265 ± 0,01 p < 0,001 p ₁ < 0,1	0,258 ± 0,013 p < 0,001 p ₁ > 0,1 p ₂ > 0,1
КИ (МСМ ₂₅₄ /ЭКА·1000)	6,94 ± 0,312	12,5 ± 1,2 p < 0,001	10,21 ± 0,41 p < 0,001 p ₁ < 0,1	18,03 ± 2,27 p < 0,001 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,01

Примечание. p – значимость различий по сравнению с контрольной группой; p₁ – значимость различий по сравнению со значениями до АГХИТ; p₂ – значимость различий по сравнению со значениями в группе больных РШМ с регрессией опухоли.

Заклучение

Таким образом, ряд биохимических показателей определяет чувствительность рецидивного и метастатического рака шейки матки к многокурсовой аутогемохимиоиммунотерапии. Фоновые значения пероксинитрита и нитрозилгемоглобина можно использовать в качестве высокоинформативных предикторов чувствительности рака шейки матки к аутогемохимиоиммунотерапии. При изначально

определенную роль в этом может играть умеренное увеличение содержания нитрозилгемоглобина, тогда как в процессе мало эффективной АГХИТ наблюдается увеличение агрессивного свободнорадикального соединения – пероксинитрита. Отсутствие эффекта лечения отмечено при фоновом трехкратном снижении содержания пероксинитрита и высоком (в 3 раза выше нормы) уровне нитрозилгемоглобина.

Список литературы

1. Бельский Ю.П., Данилец М.Г., Бельская Н.В. Роль оксида азота в иммуносупрессорной и противоопухолевой активностях клеток эмбриональной печени // Бюлл. Сибирского отделения РАМН: ежеквартальный научно-теоретический журнал. – 2005. – № 2. – С. 75–78.
2. Горошинская И.А., Сурикова Е.И., Айрапетов К.Г., Нескубина И.В., Шалашная Е.В., Немашкалова Л.А., Качесова П.С. Содержание производных оксида азота в крови онкологических больных с церебральными метастазами с различной степенью эндогенной интоксикации // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 6 (36). – С. 44–47.
3. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. – СПб.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. – 432 с.
4. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Молекулярные нарушения мембран эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюл. сибирской медицины. – 2006. – № 2. – С. 62–69.
5. Патрушев В.К. Роль оксида азота в иммуносупрессорной и противоопухолевой активностях естественных су-
прессорных клеток. Автореф. дис. канд. мед. наук. – Томск, 2004. – 23 с.
6. Сидоренко Ю.С., Горошинская И.А., Неродо Г.А., Гуськова Е.А. Способ прогнозирования эффективности аутогемотоксимоиммунотерапии у больных с рецидивами и метастазами рака шейки матки // Патент России № 2352942. 2009. Бюл. № 11.
7. Сторожакова А.Э. Аутоплазмохимиотерапия и аутоплазмохимиотерапия в лечении больных лимфомой Ходжкина. Автореф. дис. канд. мед. наук. – Ростов-на-Дону, 2006. – 25 с.
8. Kate E. Oliver, John H. Farley. Цисплатин плюс цетуксимаб в лечении рецидивирующего и персистентного рака шейки // Журнал «Медицина світу», www.msvitu.com. US Oncological Review, 2010.
9. Klammt S., Wojak H.-J., Mitzner A., Koball S., Rychly J., Reisinger E.C., Mitzner S. Albumin-binding capacity (ABiC) is reduced in patients with chronic kidney disease along with an accumulation of protein-bound uremic toxins // Nephrol Dial Transplant. – 2011. – P. 1–7.
10. Wei D., Richardson E.L., Zhu K., Wang L., Le X., He Y., Huang S., Xie K.. Direct demonstration of negative regulation of tumor growth and metastasis by host-inducible nitric oxide synthase // Cancer Res. – 2003. – Vol. 63. № 14. – P. 3855–3859.