

6. Ihaka R., Murrell P., Hornik K. et al. Color space manipulation. R package version 1.1-1. — <http://CRAN.R-project.org/package=colspace> (дата обращения: 04.12.2012).

7. Liaw W.M. Classification and regression by random forest // R News. — 2002. — Vol. 2, N 3. — P. 18-22.

8. Maechler M., Rousseeuw P., Struyf A. et al. Cluster analysis basics and extensions. R package version 1.14.3. — <http://cran.r-project.org/web/packages/cluster/cluster.pdf> (дата обращения: 04.12.2012).

9. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. — Vienna, Austria. — <http://www.R-project.org/> (дата обращения: 04.12.2012).

10. Richard A., Becker R., Wilks A.R. et al. Draw geographical maps. R package version 2.2-5. — <http://CRAN.R-project.org/package=maps> (дата обращения: 04.12.2012).

11. Ripley B. Classification and regression trees. R package version 1.0-29. — <http://cran.r-project.org/web/packages/tree/tree.pdf> (дата обращения: 04.12.2012), <http://CRAN.R-project.org/package=maptree> (дата обращения: 04.12.2012).

12. Roger S.B., Edzer P.J., Virgilio G.-R. Applied spatial data analysis with R. — Springer, NY, 2008. — 376 p.

13. Venables W.N., Ripley B.D. Modern applied statistics with S. Fourth Edition. — Springer, New York, 2002. — 495 p.

14. Verzani J.G. Widgets API for building toolkit-independent, interactive GUIs. Based on the iwidgets code of Simon Urbanek, suggestions by Simon Urbanek, Philippe Grosjean and Michael Lawrence gWidgets. R package version 0.0-52. — <http://CRAN.R-project.org/package=gWidgets> (дата обращения: 06.03.2013).

УДК 615.277.3: 616.62-006.6-037: 616.345-006.6-037: 616.152

НОЮ

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Елена Ивановна Ерлыкина¹, Татьяна Викторовна Копытова¹, Анна Валерьевна Алясова¹,
Игорь Георгиевич Терентьев¹, Татьяна Николаевна Горшкова², Владимир Георгиевич Пименов³,
Илья Игоревич Евдокимов³, Лариса Михайловна Обухова^{1*}

¹Нижегородская государственная медицинская академия,

²Приволжский окружной медицинский центр, г. Нижний Новгород,

³Институт химии высококичистых веществ им. Г.Г. Девярых, г. Нижний Новгород

Реферат

Цель. Оценка взаимосвязи биохимических показателей плазмы крови у больных солидными опухолями до и после проведения первого курса химиотерапии с наличием объективного ответа на лечение.

Методы. Изучена плазма крови 14 больных с рецидивом рака до лечения и после проведения первого курса специфической химиотерапии карбоплатином, метотрексатом, винбластином (при раке мочевого пузыря), а также иринотеканом, кальция фолинатом и фторурацилом (при раке кишечника). Первая группа включала пациентов с рецидивом рака толстой кишки: 3 мужчин и 4 женщины в возрасте 57–62 лет. Во вторую группу вошли пациенты с рецидивом рака мочевого пузыря: 5 мужчин и 2 женщины в возрасте 48–64 лет. В плазме крови оценивали свободнорадикальную активность, окислительную модификацию белков, степень эндогенной интоксикации, уровень макро- и микроэлементов.

Результаты. При достижении объективного эффекта химиотерапии у больных после первого курса лечения отмечено увеличение уровня α_1 - и γ -глобулинов, фосфора, цинка, лития и железа в плазме крови. В случае последующего прогрессирования заболевания была выявлена противоположная динамика данных показателей. При наличии объективного эффекта полихимиотерапии у больных, закончивших первый курс лечения, наблюдали значимое возрастание степени эндогенной интоксикации и снижение свободнорадикальной активности плазмы крови. При последующем прогрессировании опухолевого роста выявлена тенденция к увеличению свободнорадикальной активности плазмы крови после первого курса лечения, сопровождающаяся активацией суммарной окислительной модификации белков.

Вывод. Повышение содержания α_1 - и γ -глобулинов, фосфора в плазме крови после первого курса полихимиотерапии может быть использовано в качестве прогностического фактора эффективности противоопухолевой терапии; в качестве дополнительных аналитических факторов можно применять повышение степени эндогенной интоксикации, рост концентрации меди, железа, цинка, лития в плазме крови.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, рак кишечника, прогноз эффективности химиотерапии, α_1 -глобулин, γ -глобулин, фосфор.

PROGNOSTIC FACTORS FOR ANTI-CANCER THERAPY EFFICIENCY E.I. Erykina¹, T.V. Kopytova¹, A.V. Alyasova¹, I.G. Terentiev¹, T.N. Gorshkova², V.G. Pimenov³, I.L. Evdokimov³, L.M. Obukhova¹. ¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia, ²Volga District Medical Centre, Nizhny Novgorod, Russia, ³G.G. Devyatykh Institute of Chemistry of High-Purity Substances, Nizhny Novgorod, Russia. **Aim.** To investigate the relationship between blood plasma biochemical indicators in patients with solid tumors before a treatment and after the first course of chemotherapy with objective treatment response. **Methods.** Blood plasma samples taken from 14 patients with cancer relapse were studied before the treatment and after the first course of specific chemotherapy (carboplatin, methotrexate, vinblastine in patients with urine bladder cancer and irinotecan, leukovorin and fluorouracil in patients with colorectal cancer). The first group included patients with colorectal cancer relapse (males — 3, females — 4) aged 57–62 years. The

Адрес для переписки: ObukhovaLM@yandex.ru

second group included patients with urine bladder cancer relapse (males — 5, females — 2) aged 48–64 years. Free radical activity and protein oxidative modification, as well as endogenous intoxication and major mineral and trace elements levels were studied. **Results.** When achieving the objective chemotherapy effect in patients after the first treatment course, an increase of alpha-I globulin and gamma globulin level, as well as an increase of phosphorus, zinc, lithium and iron blood plasma level was observed. In case of following disease progression, the opposite dynamics of above-mentioned indicators was revealed. In patients with good objective effect of polychemotherapy after the first treatment course, a significant increase of endogenous intoxication and blood plasma free radical activity decrease were observed. If the following tumor progression was observed, the tendency of blood plasma free radical activity increase, accompanied by the total protein oxidative modification activation, was revealed after the first treatment course. **Conclusion.** The increase of alpha-I and gamma globulin levels, as well as an increase of phosphorus level in blood plasma after the first course of polychemotherapy can be used as prognostic factors of anticancer therapy efficiency. High level of endogenous intoxication as well as an increase of copper, iron, zinc and lithium blood plasma concentrations can be applied as the additional markers. **Keywords:** urine bladder cancer, colorectal cancer, chemotherapy efficiency prognosis, alpha-I globulin, gamma globulin, phosphorus.

Один из основных недостатков химиотерапии — эмпирический характер её назначения, обусловленный отсутствием надёжных признаков чувствительности опухоли. Показана зависимость между низким уровнем экспрессии нуклеазы ERCC1 и ответом карцином яичника, пищевода, желудка, толстой кишки, лёгкого на цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин [10]. Также продемонстрирована взаимосвязь между повышенным содержанием тимидилатсинтазы и резистентностью новообразования к фторурацилу [9]. Однако при использовании данной информации необходимо учитывать ряд особенностей опухолей: различие экспрессии тимидилатсинтазы в первичной неоплазме и метастазах, возможное увеличение её активности в процессе лечения фторпиримидинами, а также зависимость от ряда клинических факторов [12]. Помимо вышеуказанного, общий недостаток перечисленных маркёров — возможность их применения для прогноза эффективности терапии только отдельно взятыми цитостатиками, что существенно ограничивает клиническое использование. Принимая во внимание высокую токсичность противоопухолевых препаратов и их значительную стоимость, индивидуализация выбора тактики лечения при химиотерапии чрезвычайно актуальна.

Цель работы — оценка взаимосвязи динамики биохимических показателей плазмы крови у больных солидными опухолями до и после проведения первого курса химиотерапии с наличием объективного ответа на лечение.

Была изучена плазма крови 14 больных с рецидивом солидных опухолей, подтверждённых гистологически, до лечения и после первого курса химиотерапии. Первая группа включала пациентов с рецидивом рака толстой кишки: 3 мужчин и 4 женщины в возрасте 57–62 лет. Все пациенты первой группы имели IV стадию заболевания, установленную в соответствии с международной классификацией TNM. Во вторую группу вошли пациенты с рецидивом рака мочевого пузыря (III стадия): 5 мужчин и 2 женщины в возрасте 48–64 лет.

Лечение при рецидиве рака толстой кишки включало 8 курсов полихимиотерапии по схеме FOLFIRI: иринотекан («Teva Pharmaceutical Industries», Израиль), фторурацил (ООО «Лэнс-

фарм», Россия), кальция фолинат (лейковорин, ООО «Лэнс-фарм», Россия). При рецидиве рака мочевого пузыря терапия включала 6 курсов полихимиотерапии по схеме CMV: карбоплатин (ООО «Лэнс-фарм», Россия), метотрексат (ОАО «Верофарм», Россия), винбластин (ООО «Лэнс-фарм», Россия) [7]. Для оценки клинического эффекта пациенты обеих групп находились под наблюдением на протяжении 1 года и в зависимости от отдалённых результатов лечения были разделены на две подгруппы: с достигнутым объективным эффектом (частичный ответ или стабилизация) или прогрессирующим заболеванием: при раке мочевого пузыря у 5 пациентов — стабилизация, у 2 — отсутствие эффекта; при раке толстой кишки у 3 больных — стабилизация, у 4 — отсутствие эффекта. Оценку результатов лечения опухоли проводили с помощью компьютерной томографии с использованием критериев RESIST (версия 1.0), исследование выполняли до начала лечения и через каждые 8 нед во время терапии и последующего наблюдения.

Биохимические параметры плазмы крови (общий белок и белковые фракции), а также уровень макроэлементов оценивали на анализаторе «Конеллаб 20/20i» (Финляндия). Анализ свободнорадикальной активности проводили методом индуцированной биохемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-07, сопряжённом с компьютером, оценку окислительной модификации белков — спектрофотометрически по уровню карбонильных производных [3], эндогенной интоксикации — по содержанию молекул средней массы (МСМ) эритроцитов, плазмы крови, мочи [4]. Анализ уровня микроэлементов осуществляли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на спектрометре «iCAP6300Duo» («Thermo Scientific», США). Данные представлены в виде М (средняя по группам), обработаны с использованием непараметрической статистики, входящей в пакет программ Microsoft Excel, Biostat 4.3, сравнение осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни.

При оценке белкового гомеостаза плазмы крови после первого курса химиотерапии было обнаружено статистически значимое изменение уровня α_1 - и γ -глобулинов, разнонаправлен-

ное в зависимости от последующей эффективности проводимой терапии. Так, при достижении объективного эффекта химиотерапии у больных с рецидивом рака толстой кишки уже после первого курса лечения выявлено увеличение уровня α_1 -глобулинов на 76%, а при рецидиве рака мочевого пузыря — на 20%. В случае последующего прогрессирования заболевания в обеих группах было выявлено снижение содержания α_1 -глобулинов (рис. 1а).

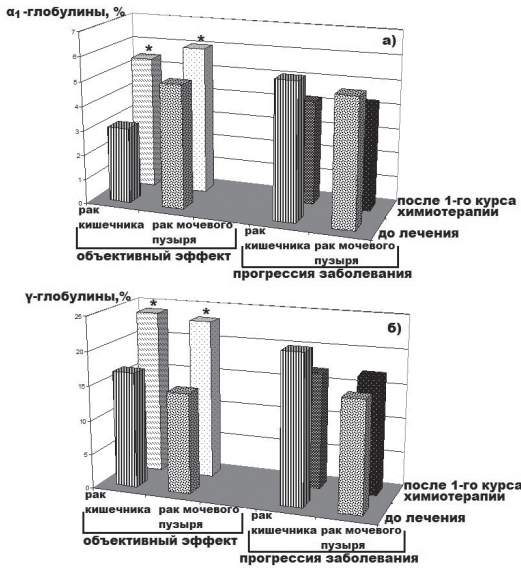


Рис. 1. Содержание α_1 - и γ -глобулинов в плазме крови больных с рецидивом злокачественных новообразований: рак толстой кишки до лечения [III]; рак мочевого пузыря до лечения [■]; после первого курса химиотерапии при наличии объективного эффекта терапии: рак толстой кишки [▨]; рак мочевого пузыря [■]; после первого курса химиотерапии при прогрессии заболевания: рак толстой кишки [▩]; рак мочевого пузыря [▤]; * $p \leq 0,05$ по сравнению с показателями до лечения.

При последующем достижении частичного ответа или стабилизации опухолевого процесса в ответ на полихимиотерапию отмечен рост содержания γ -глобулинов: при рецидиве рака толстой кишки — на 42%, при рецидиве рака мочевого пузыря — на 59% (рис. 1б).

Известно, что при используемых дозах цитостатиков элиминация опухолевых клеток происходит в основном путём некроза, характеризующегося пассивным аутолизом клеточного содержимого лизосомальными гидролазами, разрывом клеточной мембраны и поступлением содержимого клетки во внеклеточную среду [1]. Это иммуногенный процесс, сопровождающийся высвобождением воспалительных медиаторов — цитокинов или конечных медиаторов воспаления. Перечисленные события участвуют в презентации опухолевых антигенов и активируют цитотоксический ответ [8]. По современным представлениям [11] успешность химиотерапии в значительной мере определяется формированием воспалительной реакции в ответ на разруше-

ние опухолевых клеток.

В случаях последующего достижения объективного эффекта после проведения полихимиотерапии у больных, закончивших первый курс лечения, наблюдали значительное увеличение содержания МСМ плазмы крови (в 3 раза при рецидиве рака толстой кишки и в 1,6 раза при рецидиве рака мочевого пузыря), МСМ эритроцитов (в 1,6 и 1,7 раза соответственно). Количество МСМ мочи, напротив, при этом уменьшалось

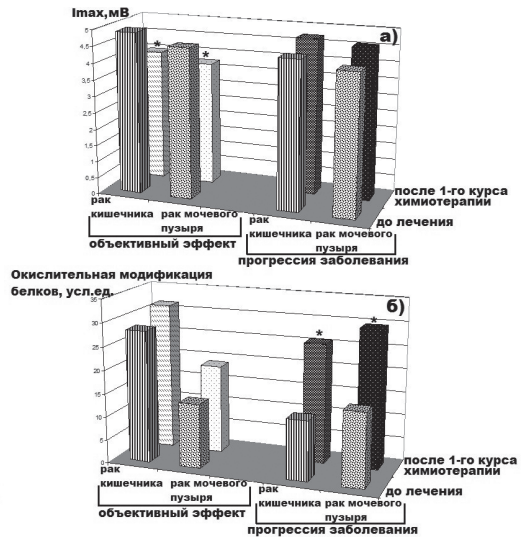


Рис. 2. Динамика изменений свободнорадикальной активности I_{max} (а) и окислительной модификации белков (б) плазмы крови у больных с рецидивом злокачественных новообразований: рак толстой кишки до лечения [III]; рак мочевого пузыря до лечения [■]; после первого курса химиотерапии при наличии объективного эффекта терапии: рак толстой кишки [▨]; рак мочевого пузыря [■]; после первого курса химиотерапии при прогрессировании заболевания: рак толстой кишки [▩]; рак мочевого пузыря [▤]; * $p \leq 0,05$ по сравнению с показателями до лечения.

в 2 и 1,8 раза. Вышеперечисленное обусловило статистически значимое возрастание степени эндогенной интоксикации: с I до III стадии после первого курса полихимиотерапии. Данный факт также может быть объяснён попаданием продуктов незавершённого протеолиза опухолевых клеток, разрушаемых под действием препаратов, в системный кровоток, так как пул МСМ, помимо всего прочего, включает олигопептиды, образующиеся при протеолизе и аутолизе клеток, и промежуточные продукты метаболизма [5].

При развитии объективного эффекта лечения у больных после первого курса терапии происходит статистически значимое снижение свободнорадикальной активности плазмы крови — в среднем на 20% (рис. 2а, табл. 1). Данный факт может быть обусловлен высоким уровнем восстановленного глутатиона и активности каталазы [6] в опухолевых клетках и выходом этих соединений в системный кровоток. При последующем прогрессировании опухолевого заболевания показана тенденция к росту свободнорадикальной

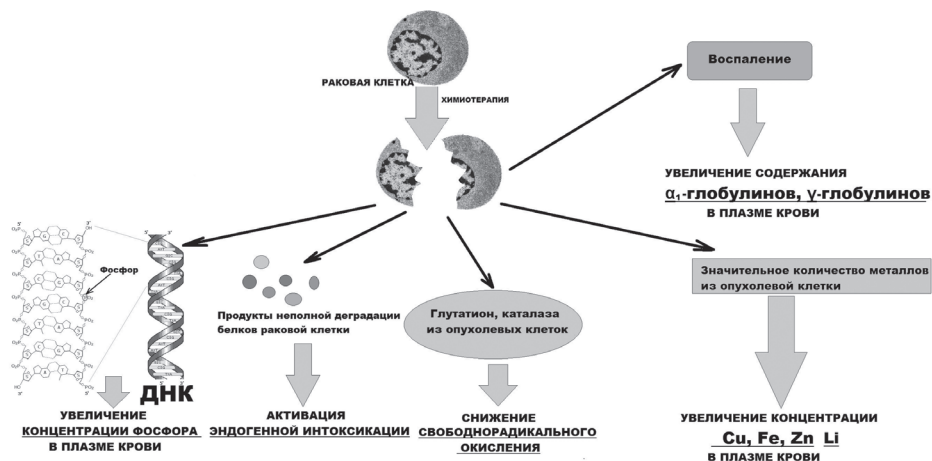


Рис. 3. Последствия некротического разрушения клеток опухоли в случае успешной химиотерапии; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

активности плазмы крови после первого курса лечения, сопровождающаяся активацией суммарной окислительной модификации белков в 2,83 раза у больных с рецидивом рака толстой кишки и в 2 раза у больных с рецидивом рака мочевого пузыря (рис. 26). Одновременное возрастание окислительной модификации белков кетонов, определяемых при длине волны 370 нм, — поздних маркёров окислительной деструкции белка — свидетельствует о неслучайности данной тенденции. Именно белки в силу особенностей своего строения являются одними из основных ловушек активных форм кислорода, в силу чего их окислительная модификация служит одним из ранних и наиболее надёжных маркёров окислительного стресса [2].

Статистически значимые изменения после проведения первого курса полихимиотерапии из всех исследованных макроэлементов (Na, K, Cl, Mg, Ca, P) были выявлены только для кальция и фосфора. В случае последующей успешности проведённого лечения уровень фосфора в плазме крови значительно (в 3,97 и 3,51 раза) возрос, что, вероятно, обусловлено его попаданием в системный кровоток при разрушении малигнизированных клеток. Источником фосфора могут служить нуклеиновые кислоты, а также фосфолипиды плазматической мембраны. При неэффективности лечения и прогрессировании заболевания обнаружен противоположный эффект.

Статистически значимое повышение содержания кальция в плазме крови после проведения полихимиотерапии независимо от результатов лечения, возможно, обусловлено активацией процессов апоптоза под действием химиопрепаратов, выступающих как стрессорные факторы. На поверхности «стрессированных» клеток появляется первый морфологический сигнал апоптозозависимых модификаций — кальретикулин (Ca²⁺-связывающий протеин, который при нормальной жизнедеятельности клетки находится в эндоплазматическом ретикулуме) [14].

Некоторые опухоли эпителиальных тканей накапливают металлы [13, 15], поэтому при лизисе злокачественных клеток под действием химиотерапии неудивительно, что эти металлы попадают в кровь, обуславливая значимое повышение их содержания в кровотоке: цинка — в 1,6 и 2,2 раза; лития — в 2,5 и 1,8 раза; железа — в 3,1 и 2,5 раза соответственно в группах с положительной динамикой при рецидиве рака кишечника и мочевого пузыря.

Все вышесказанное было суммировано в схематичном изображении событий, происходящих в случае успешной химиотерапии (рис. 3).

ВЫВОДЫ

1. Повышение содержания α₁-глобулинов, γ-глобулинов и фосфора в плазме крови после

Таблица 1

Уровень α₁- и γ-глобулинов у больных с рецидивом злокачественных новообразований эпителиальных тканей до и после первого курса химиотерапии

	Рецидив рака кишечника				Рецидив рака мочевого пузыря			
	Стабилизация		Нет положительной динамики		Стабилизация		Нет положительной динамики	
	до	после	до	после	до	после	до	после
α ₁ -глобулины, %	2,7	5,2*	4,9	3,7	4,2	5,9*	4,6	4,1
γ-глобулины, %	16,2	23,5*	19,0	17,2	13,0	23,2*	18,0	17,3

Примечание: *р ≤ 0,05 по сравнению с показателями до проведения химиотерапии.

первого курса полихимиотерапии можно использовать в качестве опережающих маркёров оценки её эффективности при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей.

2. В качестве дополнительных аналитических факторов развития объективного ответа на проведение лекарственного противоопухолевого лечения можно применять повышение степени эндогенной интоксикации, рост концентрации микроэлементов меди, железа, цинка и лития в плазме крови больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блохин Ю.Д. Фенотип множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток, обусловленный нарушением программы клеточной гибели // Вестн. РАМН. — 2004. — №12. — С. 16-20.
2. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, созидание и разрушение // СПб.: Медицинская пресса, 2006. — 400 с.
3. Дубинина Е.И., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порохов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Вопр. мед. хим. — 1995. — Т. 41, №1. — С. 24-25.
4. Копытова Т.В., Добротина Н.А., Химкина Л.Н., Ларина Т.Н. Некоторые подходы к лабораторной диагностике эндоинтоксикации при хронических дерматозах // Клини. лаб. диагн. — 2000. — №1. — С. 18-20.
5. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эффер. терап. — 2000. — Т. 6, №4. — С. 3-14.
6. Орлов Д.С., Носарева О.Л., Коновалова Е.В. и др. Содержание гидроксильного радикала и фракций глутатиона в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови // Соврем. наукоёмкие технол. — 2012. —

№7. — С. 58-59.

7. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И. Переводчиковой. 2-е изд., доп. — М.: Практическая медицина, 2005. — 365 с.

8. Apetoh L., Ghiringhelli F., Tesniere A. et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy // Nat. Med. — 2007. — Vol. 13, N 9. — P. 1050-1059.

9. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer // Cancer Treat Rev. — 2002. — Vol. 28, N 1. — P. 27-47.

10. Joshi M.B., Shiota Y., Danenberg K.D. et al. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer // Clin. Cancer Res. — 2005. — Vol. 11, N 6. — P. 2215-2221.

11. Lake R.A., Robinson B.W.S. Immunotherapy and chemotherapy- a practical partnership // Nature Reviews. Cancer. — 2005. — Vol. 5. — P. 397-405.

12. Libra M., Navolanic P.M., Talamini R. et al. Thymidylate synthetase mRNA levels are increased in liver metastases of colorectal cancer patients resistant to fluoropyrimidine-based chemotherapy // BMC Cancer. — 2004. — Vol. 4, N 1. — P. 11-17.

13. Mir M.M., Dar N.A., Malik M.A. et al. Studies on association between Copper excess, Zinc deficiency and P53 mutations in esophageal squamous cell carcinoma from Kashmir valley, India — a high risk area // Intern. J. of Health Sciences. — Vol. 1, N 1. — 2007. — P. 35-41.

14. Obeid M., Tesniere A., Ghiringhelli F. et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. — Nat. Med. — 2007. — Vol. 13, N 10. — P. 54-61.

15. Richardson D.R., Kalinowski D.S., Lau S. et al. Cancer cell iron metabolism and the development of potent iron chelators as anti-tumor agents // Biochim. Biophys. Acta. — 2009. — Vol. 1790, N 7. — P. 702-717.

УДК 612.115: 616.147.3-005.6-092: 616.151.5: 616.131-005.755

НО11

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ МАРКЁРОВ ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЗА

Ляйли Диляверовна Зубаирова*, Ильшат Ганеевич Мустафин, Роза Мулаяновна Набиуллина

Казанский государственный медицинский университет

Реферат

В настоящем обзоре суммированы результаты экспериментальных и клинических исследований, расшифровывающие механизмы, которые инициируют венозный тромбоз. Сохраняется актуальность рассмотрения патогенеза формирования тромбов в венах в рамках классической триады Вирхова, причём становится более понятным характер взаимодействия отдельных её компонентов — изменения в составе крови, нарушение гемодинамики кровотока и изменения сосудистой стенки. Изменения в составе крови включают количество и функциональное состояние белков и клеток системы гемостаза. Среди изменений кровотока важны скорость тока крови, влияющая на транспортировку клеток и коагуляционных белков к участку и от участка тромбообразования, и локальная гидродинамическая сила, модулирующая адгезивную и прокоагулянтную активность эндотелия и тромбоцитов. Сосудистая стенка обеспечивает тканевой фактор, который является инициатором гемокоагуляции; фосфолипидную поверхность клеточных мембран и микровезикул для сборки ферментных комплексов свёртывающей системы; а также адгезивные белки для «улавливания» из кровотока тромбоцитов и лейкоцитов.

Нарушение венозного оттока крови, вызывая локальную гипоксию, сопровождается прокоагулянтной перестройкой клеток: на эндотелии экспрессируется Рселектин, способствующий аккумуляции лейкоцитов и клеточных микровезикул, содержащих инициатор свёртывания крови — тканевой фактор. Повышается локальная концентрация прокоагу-

Адрес для переписки: zubairovalaily@gmail.com