

УДК 616.317-006.6-074

И.А. Толченицин, О.Ф. Лыкова, Н.В. Мальцева

УРОВЕНЬ ЛАКТОФЕРРИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ, ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ГУБ

ГОУ ДПО Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей МЗ РФ

В работе представлены сведения о содержании лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови больных с хроническими воспалительными процессами губ, облигатными и факультативными предраковыми заболеваниями губ, а также больных раком губы различных стадий распространения (I—IV) опухолевого процесса до и после эффективного лечения. До лечения концентрация ЛФ у обследуемых пациентов составила $1,06 \pm 0,18$ мкг/мл; $1,25 \pm 0,36$ мкг/мл и $1,22 \pm 0,15$ мкг/мл соответственно, т. е. была в два раза больше, чем у здоровых людей ($0,52 \pm 0,03$ мкг/мл; $p < 0,01$). Максимальные уровни белка отмечались у больных со II и III стадиями рака. Эффективное лечение приводило к снижению содержания ЛФ. Таким образом, сывороточная концентрация ЛФ отражает степень тяжести патологического процесса у больных с поражениями губ.

Ключевые слова: лактоферрин; воспаление, предрак и рак губ

На протяжении последних десятилетий заболеваемость раком губы не снижается и среди опухолей головы и шеи ее удельный вес составляет 26% [1]. Считается, что в 86,5% случаев возникновению рака губы предшествуют длительные воспалительные или предопухолевые процессы красной каймы губ [1], что обуславливает актуальность их выявления и оценки их тяжести. Злокачественные новообразования губ относятся к так называемым визуальным опухолям, т. е. доступным для наружного осмотра, прямой пальпации, взятия цитологического и гистологического материала, и имеют относительно благоприятный прогноз по сравнению с другими локализациями. Несмотря на это, нередки случаи выявления больных с распространенными опухолевыми процессами и метастазами в регионарные лимфатические узлы. Наиболее частой причиной этого является поздняя обращаемость больных за медицинской помощью, диагностические ошибки и недостаточный контроль эффективности проведенного лечения. Последнее определяет поиск тестов, которые позволили бы, с одной стороны, улучшить диагностику, а с другой — контролировать злокачественный процесс на различных этапах лечения. В литературе встречаются сообщения о связи лактоферрина (ЛФ) с канцерогенезом некоторых органов и систем [8]. Этим объясняется интерес к данному белку и цель настоящего исследования, в котором нами была проведена оценка уровня сывороточного лактоферрина у больных с хроническими воспалительными процессами (эрозия и язва), предраковыми новообразованиями (облигатные, факультативные) и злокачественными опухолями губ.

Методика. Были обследованы 59 пациентов, лечившихся в клинике челюстно-лицевой хирургии Новокузнецкого ГИДУВ в возрасте от 45 до 79 лет. Наибольший процент (38,3%) пришелся на возрастную группу 60—70 лет. Мужчины составили 46 случаев, женщины — 13. Жители Но-

вокузнецка и других городов южного региона Кузбасса составили 86,4% (51 человек), сельской местности — 13,6% (8 наблюдений). Наличие вредных привычек (курение, употребление алкоголя) отмечено у 85,4% пациентов. По профессиональному составу преобладали лица, работающие или ранее работавшие на вредных производствах не менее 15–25 лет (86,8% случаев). При изучении анамнеза заболевания было установлено, что у большей части больных со злокачественными опухолями появлению новообразования предшествовали длительные (в среднем 6 месяцев, реже — 1 год) патологические процессы красной каймы губ. Поздняя обращаемость (17 человек) наблюдалась у больных, проводивших безуспешное самолечение.

В зависимости от характера заболевания нами были выделены 3 группы пациентов: 1 — пациенты с хроническими воспалительными процессами губ (эрозия и язва; 9 человек); 2 — пациенты с предраковыми заболеваниями губ (облигатные и факультативные; 14 человек) и 3 — больные раком губы с различной стадией распространения опухолевого процесса от I до IV (38 человек). Последняя группа включала 9 человек с I, 11 человек — со II, 12 человек — с III и 8 человек — с IV стадиями злокачественного новообразования. При патоморфологическом исследовании у них был выявлен плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки, чаще — высокодифференцированный. Всем больным было проведено лечение, которое заключалось в хирургическом лечении больных I и II групп и хирургическом лечении или комбинированном по методике "операция+лучевая терапия" больных III группы. Послеоперационная лучевая терапия проводилась через 2—3 недели. Четырём больным с IV стадией рака губы из-за тяжёлой сопутствующей патологии со стороны сердечно-сосудистой и дыхательной систем оперативное лечение не проводилось.

Контрольная группа состояла из 53 здоровых лиц мужского и женского пола в возрасте от 30 до 70 лет, проживающих в Новокузнецке.

Концентрацию лактоферрина определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием иммуноферментного набора реагентов "Лактоферрин-стрипт", разработанного ЦНИЛ Новокузнецкого ГИДУВ совместно с ЗАО "Вектор-Бест" (Новосибирск). Фотометрию проводили на MICROPLATE READER 3550-UV ("Bio-Rad", США). Обработку полученных данных осуществляли с помощью программы "Microplate Manager" ("Bio-Rad", США). Статистический анализ проводили с использованием программы "Instat 2" ("Sigma", США). Стандартная обработка включала подсчет средних арифметических величин и стандартных ошибок среднего (SEM, standard error of mean). Значимость различий показателей в группах оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили посредством вычисления коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты. Показатель средней концентрации ЛФ в сыворотке крови здоровых лиц представлен в табл. 1. Среди них у мужчин концентрация ЛФ превышала таковую у женщин в 1,4 раза ($0,60 \pm 0,03$ мкг/мл и $0,43 \pm 0,035$ мкг/мл соответственно; $p=0,001$), а индивидуальные колебания показателей составили диапазон значений от 0,33 мкг/мл до 0,91 мкг/мл, в то время как у женщин от 0,21 мкг/мл до 0,95 мкг/мл.

Результаты показали, что уровень лактоферрина в сыворотке крови больных увеличен по сравнению со здоровыми лицами (табл. 1). У пациентов с хроническим воспалением губы (группа 1) наблюдали повышение содержания белка в 2 раза. А в группах больных с предраком и раком губы (группы 2 и 3 соответственно) концентрация ЛФ была выше, чем в контроле, в 2,4 и 2,3 раза соответственно. Анализ индивидуальной вариативности полученных данных показал, что

колебания уровня белка более выражены у больных с предраком и раком губы, чем при хроническом воспалении (рис. 1), т. е. максимальное увеличение концентрации ЛФ происходит при развитии или в присутствии злокачественной опухоли. Эффективное лечение привело к снижению содержания ЛФ у всех обследуемых на 10-й день после его проведения (табл. 1). Диапазон индивидуальных колебаний также уменьшился (рис. 1). Обнаружена достаточно высокая корреляционная связь между показателями лактоферрина во всех группах пациентов до и после лечения на 10-ые сутки при хроническом воспалении $r=0,9429$; при предраке губы $r=0,7143$; при раке губы $r=0,4377$.

Больные раком губы различных стадий были обследованы на содержание ЛФ в сыворотке крови до лечения и в течение одного года после его проведения. Полученные результаты представлены в табл. 2. Они свидетельствуют, что до лечения у больных с I стадией рака содержание лактоферрина достоверно превышало соответствующий показатель контрольной группы в 1,7 раза. Индивидуальные показатели ЛФ в этой группе пациентов колебались от 0,40 мкг/мл до 2,71 мкг/мл. При II стадии заболевания определялся максимальный уровень ЛФ. Так, средняя концентрация ЛФ в группе этих больных до лечения была больше контрольного показателя более чем в три раза, а индивидуальные данные образовали диапазон от 0,6 мкг/мл до 3,6 мкг/мл. В группе больных с III стадией рака среднее содержание ЛФ превысило контрольное значение в 2,4 раза, но диапазон индивидуальных колебаний был таким же широким, как в группе больных со II стадией заболевания (рис. 2). В группе лиц с IV стадией рака средняя концентрация лактоферрина была повышена в 1,4 раза по сравнению с контролем, а индивидуальная вариативность полученных данных была минимальной — от 0,58 мкг/мл до 1,02 мкг/мл.

Таблица 1
Содержание лактоферрина в сыворотке крови обследуемых лиц (мкг/мл) ($M \pm m$)

Группы обследованных	До лечения	На 10-ые сут после лечения
Контроль n=53	$0,52 \pm 0,03$	—
Группа 1 n=9	$1,06 \pm 0,18$ $p=0,0017$	$0,69 \pm 0,17$ $p^*=0,0313$
Группа 2 n=14	$1,25 \pm 0,36$ $p=0,0262$	$0,83 \pm 0,44$ $p^*=0,0313$
Группа 3 n=38	$1,22 \pm 0,15$ $p<0,0001$	$0,75 \pm 0,09$ $p^*=0,0008$

Примечание, p — уровень значимости различий в сравнении с контрольным показателем; p^* — уровень значимости различий по сравнению со значением, полученным до лечения; n — количество обследованных лиц.

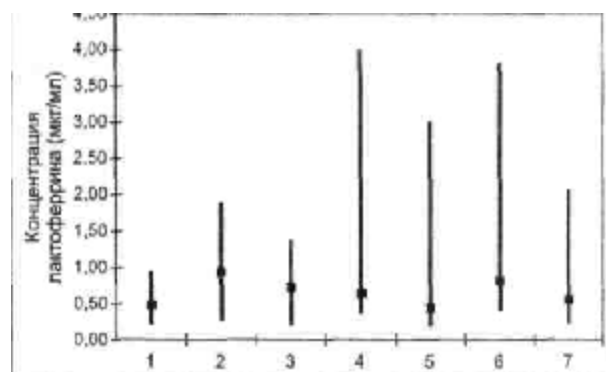


Рис. 1. Вариативность уровня ЛФ у больных с хроническим воспалением, предраком и раком губ до лечения и на 10-ые сут после него.

1 — контроль; 2, 4, 6 — хроническое воспаление, предрак и рак губы, соответственно, до лечения; 3, 5, 7 — то же после лечения

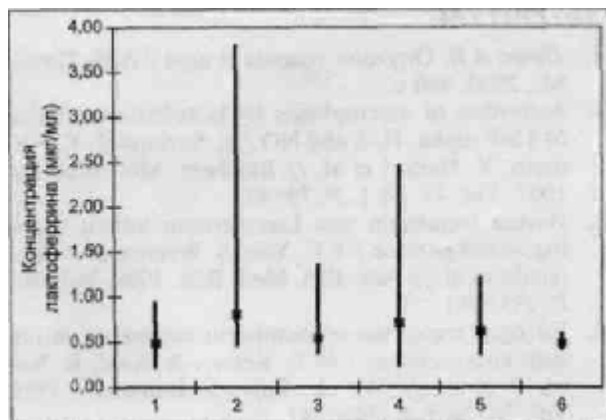


Рис. 2. Вариабельность уровня ЛФ у больных раком губы III стадии до лечения (2) и на 10-е сут (3), через 1 мес. (4), через 3 мес. (5), через 1 год (6) после лечения в сравнении с контролем (1)

После эффективного лечения на 10-е сутки содержание ЛФ в группе больных с I стадией рака оставалось по-прежнему высоким (табл. 2), однако диапазон индивидуальных колебаний искомого показателя уменьшился, что дает основание говорить о тенденции к нормализации уровня ЛФ у этих пациентов. В группах больных со II и III стадиями рака среднее содержание ЛФ уменьшилось в 2,4 раза и 2 раза соответственно, т. е. до уровня контроля. Длительное обследование этих больных показало, что уровень ЛФ у них на протяжении года после эффективного лечения в среднем практически не отличается от нормы (табл. 2, рис. 2). Анализ же вариабельности индивидуальных значений выявил их большой разброс, особенно у пациентов со II стадией рака на 10-е сутки (0,22—2,07 мкг/мл) и через 1 месяц (0,33-3,80 мкг/мл) после лечения. Уменьшение индивидуальной вариабельности у этих больных

наблюдалось лишь через 3 месяца (0,26—1,59 мкг/мл), а нормализация через год (0,27—0,69 мкг/мл) после лечения. Было отмечено повышение показателей ЛФ у 40% больных с III стадией рака на 30-ые сутки с начала лечения (рис. 2). Эффект явился ответной реакцией на лучевую терапию в дозе 24 Гр., проведенную этим пациентам. В последующие сроки индивидуальная вариабельность концентрации лактоферрина у них нормализовалась.

Заключение. Клиническая значимость уровня сывороточного лактоферрина при различных заболеваниях связывается с причислением этого белка к реактантам острой фазы, использование количественных показателей которого может быть полезно как для оценки степени тяжести воспалительного процесса, так и для проверки адекватности проводимой противовоспалительной терапии. В наших исследованиях хроническое воспаление губы также сопровождалось значимым повышением уровня лактоферрина в сыворотке крови больных людей по сравнению со здоровыми, а эффективное лечение приводило к его снижению у всех обследуемых.

Лактоферрин привлекает внимание онкологов, ведущих поиск неспецифических и специфических опухолеассоциированных маркеров. Аргументами в пользу пригодности ЛФ как неспецифического маркера злокачественного процесса являются исследования, показавшие повышение экспрессии лактоферрина в злокачественных клетках в отличие от нормальных [6, 10], в пролиферирующей ткани по сравнению с секреторной [4], и вполне конкретные мнения, например J. Farley и соавт. [8], определивших связь ЛФ с развитием рака молочной железы, опухолей лимфоидной системы, и уверенно считающих этот белок раково-специфическим маркером эндоцервикальных аденокарцином.

Нами впервые получены данные по содержанию лактоферрина в сыворотке крови больных с облигатными и факультативными предраковыми

Таблица 2

Стадия заболевания	До лечения	После лечения			
		через 10 дней	через 30 дней	через 3 мес.	через 1 год
Контроль n=53	0,52±0,03	—	—	—	—
I n=9	0,92±0,24 p=0,0246	1,17±0,26 p=0,005	—	—	—
II n=11	1,71±0,33 p<0,0001	0,71±0,48 p*=0,0039	0,97±0,48 p*=0,0250	0,59±0,21 p*=0,0075	0,49±0,12 p*=0,0140
III n=12	1,27±0,29 p=0,0012	0,65±0,09 p*=0,0387	0,97±0,20 p=0,0277	0,64±0,09	0,50±0,06 p*=0,0484
IV n=8	0,76±0,07 p=0,0101	—	—	0,62±0,14	—

Примечание, p — уровень значимости различий в сравнении с контролем; p* — уровень значимости различий между данным показателем в сравнении с показателем до лечения в этой группе больных; n - количество обследованных лиц.

заболеваниями губ, а также больных раком губы различных стадий распространения опухолевого процесса до и после эффективного лечения. Развитие этих заболеваний, по нашим результатам, вызывает более значительный подъем сывороточного уровня лактоферрина (в 2—8 раз по сравнению с нормой), чем при хроническом воспалении губы, что может быть отражением большей степени распространенности патологического процесса. Эффективное лечение приводит к нормализации показателя лактоферрина. Следовательно, уровень ЛФ отображает динамику опухолевого процесса при изучаемой патологии.

По-видимому, необходимы дополнительные исследования для объяснения обнаруженных нами относительно низких уровней ЛФ у больных с IV стадией рака губы. Вполне вероятно, что на различных этапах развития злокачественной опухоли в организме механизмы регуляции синтеза ЛФ, причастность к которым опухоли несомненна, меняются. Это может быть связано с изменением цитокинового профиля опухоли и ее способности как самостоятельно синтезировать этот белок, так и влиять на его продукцию в других тканях и клетках при злокачественной прогрессии. Связь лактоферрина с цитокинами обнаружена в работах, показавших, что эпидермальный фактор роста стимулирует экспрессию гена лактоферрина у мышей [7], а сам лактоферрин способен активировать синтез фактора некроза опухоли и интерлейкина-8 [2]. Лактоферрин обладает противоопухолевыми свойствами [3, 5, 9], и, возможно, его высокая сывороточная концентрация на ранних этапах злокачественного процесса отражает более благоприятный прогноз, что, бесспорно, требует дальнейшего изучения и подтверждений.

SERUM LACTOFERRIN LEVELS IN PATIENTS WITH LIP INFLAMMATION, PRECANCER AND CANCER

LA. Tolchenitsin, O.F. Lykova, N.V. Maltseva

Lactoferrin (Lf) serum concentration was determined in patients with chronic lip inflammation, obligated and facultative pre-cancer lip diseases and lip cancer before and after the effective treatment. Before treatment Lf concentration was accordingly $1,06 \pm 0,18$ mkg/ml, $1,25 \pm 0,36$ mkg/ml and $1,22 \pm 0,15$ mkg/ml, i.e. it was twice more, than in healthy people ($0,52 \pm 0,03$ mkg/ml, $p < 0,01$). Maximum Lf concentrations were found in patients with II and III stages of cancer. The effective treatment resulted in Lf decrease. Thus serum Lf concentration reflects a development of pathological process in patients with lip diseases.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи / А.И. Пачес. М., 2000. 480 с.
2. Activation of macrophages by lactoferrin: secretion of TNF-alpha, IL-8 and NO / K. Sorimachi, K. Akimoto, Y. Hattori et al. // Biochem. Mol. Biol. Int. 1997. Vol. 43. № 1. P. 79-87.
3. Bovine lactoferrin and Lactoferricin inhibit tumor metastasis in mice / Y.C. Yoo, S. Watanabe, R. Watanabe et al. // Adv. Exp. Med. Biol. 1998. Vol. 443. P. 285-291.
4. Estrogen regulation of lactoferrin expression in human endometrium / M.E. Kelder, A. Kaul, B. Nowicki et al. // Am. J. Reprod. Immunol. 1996. Vol. 36. № 5. P. 243-247.
5. Inhibition of azoxymethane-initiated colon tumor by bovine lactoferrin administration in F344 rats / K. Sekine, E. Watanabe, J. Nakamura et al. // Jpn. J. Cancer. Res. 1997. Vol. 88. № 6. P. 523-526.
6. Lactoferrin in thyroid lesions: immunoreactivity in fine needle aspiration biopsy samples / R. Yossie Asato de Camargo, A. Longatto Filho, V.A. Alves et al. // Acta Cytol. 1996. Vol. 40. № 3. P. 408-413.
7. Mouse lactoferrin gene. Promoter-specific regulation by EGF and cDNA cloning of the EGF-response-element binding protein / C Teng, H. Shi, N. Yang, H. Shigeta // Adv. Exp. Med. Biol. 1998. Vol. 443. P. 65-78.
8. Neoplastic transformation of the endocervix associated with downregulation of lactoferrin expression / J. Farley, D. Loup, M. Nelson et al. // Mol. Carcinog. 1997. Vol. 20. № 2. P. 240-250.
9. Sakamoto N. Antitumor effect of human lactoferrin against newly established human pancreatic cancer cell line SPA / N. Sakamoto // Gan. To. Kagaku. Ryoho. 1998. Vol. 25. № 10. P. 1557-1563.
10. Tuccari G. Iron binding proteins in gallbladder carcinomas. An immunocytochemical investigation / G. Tuccari, R. Rossiello, G. Barresi // Histol. Histo-pathol. 1997. Vol. 12. № 3. P. 671-676.