

Оскільки розрахунок судинного компонента закладений у функції апарата VOLUSON 730 Pro виробником, можна досить коректно провести порівняльний аналіз судинного компонента й інших тканин. Отримані попередні результати з дослідження змін судинного русла в пухлині і навколишніх нормальних тканинах у хворих на рак грудної залози у процесі проведення ПТ показали, що на різних етапах променевого лікування у жінок спостерігаються різні зміни судинного русла. Так, в одних випадках кровотік у пухлині і нормальних тканинах збільшується, в інших — зменшується. Так само відбуваються різноспрямовані зміни стану кровотоку в пухлині і нормальних тканинах — зменшення в перших, збільшення в других і навпаки.

Різний характер, ступінь вираженості змін, час їх появи і динаміка дозволять визначити закономірності, що відбуваються в пухлині, навколишніх нормальних тканинах у відповідь на променеви вплив у різних категорій онкологічних хворих, що можна використати для вироблення індивідуального планування ПТ конкретному хворому і тим самим підвищити якість спеціалізованого лікування.

Таким чином зміна стану судинного русла і кровотоку в пухлині і навколишніх нормальних тканинах у процесі ПТ може лягти в основу її індивідуального планування в онкологічних хворих і своєчасної корекції дози опромінення.

Література

1. Заболотская Н.В. // SonoAse-International. Рус. версия. – 1999. – № 5. – С. 35.
2. Шевченко Е.П. // Там же. – 1999. – № 4. – С. 72–76.
3. Возианова Ж.И. Голубовская О.А. // Журн. Акад. мед. наук України. – 2008. – Т. 14, № 3. – С. 484–493.

В.А. Кубишкін, О.І. Крадінов, В.В. Опришко,
С.М. Бобров, А.І. Гордієнко, А.А. Бакова,
Н.В. Хіміч

Кримський державний медичний університет
ім. С.І. Георгієвського, Сімферополь

Взаємозв'язок реакцій показників протеолізу, антиендотоксину імунітету та маркерів апоптозу у сироватці крові при променеви терапії злоякісних пухлин з радіомодифікацією

Interrelation of proteolysis reactions, antiendotoxin immunity and apoptosis markers in the blood serum at radiation therapy with radiomodification

Summary. The investigation of 18 patients with head and neck tumors demonstrated that radiation therapy with radiomodification produced more intensive normalization of proteolysis parameters, increase of blood serum TNF- α level and reduction of the indices of humoral and antiendotoxin immunity, when compared with the group of the patients without modification. Normalizing proteolysis parameters and TNF- α level increase can be considered as one of the possible criteria of efficacy of RT with radiomodification, which requires further investigation.

Key words: radiation therapy, apoptosis, immune system, radiomodification.

Резюме. В проведенном исследовании у 18 больных с опухолями области головы и шеи показано, что лучевая терапия с радиомодификацией приводит к более интенсивной нормализации показателей протеолиза, росту уровня TNF- α в сыворотке крови и снижению показателей гуморального и антиэндотоксину иммунитета, чем в группе больных без модификации. Нормализация показателей протеолиза и рост TNF- α может рассматриваться как один из возможных критериев эффективности ЛТ с радиомодификацией, что требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: лучевая терапия, апоптоз, иммунная система, радиомодификация.

Ключові слова: променева терапія, апоптоз, імунна система, радіомодифікація.

Використання променеви терапії (ПТ), яка застосовується в 60–70 % випадків лікування злоякісних новоутворів, ґрунтується на більш високій радіочутливості пухлин порівняно з нормальною тканиною [1]. У зв'язку з цим основними критеріями підвищення ефективності ПТ є правильна оцінка радіочутливості пухлини та розробка підходів до збільшення радіотерапевтичного інтервалу. Один із можливих підходів до вирішення завдання — розробка і застосування радіомодифікуючих впливів, що дозволяють підвищити радіочутливість пухлини і, як наслідок, збільшити загальну і безрецидивну виживаність.

З іншого боку, розкриття нових патогенетичних механізмів формування та розвитку пухлини дозволило виявити ряд чинників, які залучені до патогенезу розвитку пухлин і можуть брати участь у реалізації ефектів променеви терапії [2, 3]. Серед факторів, що інтенсивно вивчаються останнім часом — апоптоз, система протеолітичних ферментів та їх інгібіторів, а також імунна система [4–7]. Важливе значення процесів апоптозу, протеїназ та їх інгібіторів, компонентів імунної системи у формуванні та прогресуванні пухлин дозволяє припустити, що дослідження змін у зазначених системах можна використовувати з діагностичною та прогностичною метою, а також для більш адекватного призначення ПТ та оцінки її ефективності у хворих зі злоякісними новоутворами.

Метою цього дослідження є оцінка ефективності ПТ поєднано з комплексом радіомодифікуючих впливів у хворих з пухлинами зони голови та шиї з використанням вивчення показників системи протеолізу, маркерів апоптозу та гуморального імунітету.

Спостерігали хворих з онкопатологією, які лікувалися у відділенні радіології Республіканської клінічної лікарні ім. Семашка. Всього обстежено 18 хворих з пухлинами зони голови та шиї. Переважали патології: рак гортані (14 хворих), рак кореня язика (2), рак нижньої губи (1) і носоглотки (1). Для характеристики хворих використовували класифікацію TNM. Поширеність пухлини та її точна локалізація були уточнені на основі обстеження, даних комп'ютерної томографії, звичайного рентгенологічного та рентгенографічного досліджень. У більшості хворих, вік яких варіював у межах 50–70 років, діагноз був гістологічно верифікований. Контрольну групу склали 14 здорових людей.

Для дослідження впливу ПТ без та з радіомодифікацією на ефективність лікування та зміни досліджуваних показників хворі були поділені на 2 групи. В контрольній групі було 7 пацієнтів, з яких 3 із пухлинами стадії Т2 і 4 — з пухлинами стадії Т3. У дослідній групі налічувалося 11 хворих, з яких 4 — з пухлинами стадії Т2 і 7 — з пухлинами стадії Т3. Пацієнти контрольної групи отримували тільки розщеплений курс традиційної дистанційної гамма-терапії за радикальною програмою (разова доза не перевищувала 2 Гр, сумарна — 60–64 Гр). У дослідній групі радикальну ПТ проводили динамічним (модифікованим) фракціонуванням на фоні комплексу радіомодифікуючих впливів. У зв'язку з цим, курс ПТ починали з укрупнених фракцій по 4 Гр до СОД 12 Гр, потім продовжували методом суперфракціонування дози (дроблення добової дози 2 Гр на дві фракції 1 + 1 Гр з інтервалом між ними 4 год) до СОД 30 Гр. Другий етап проводили після двотижневої перерви за ідентичною схемою до СОД 60 Гр.

Комплекс впливів включав у себе проведення таких маніпуляцій. Перед кожним сеансом опромінення здійснювалося омагнічування пухлини і зон регіонарного метастазування протягом 30 хв спеціально сконструйованим апаратом, що складається з двох постійних магнітів з напруженістю магнітного поля 800 мТл. За 15 хв до і впродовж усього сеансу ПТ використовували внутрішнє лазерне опромінювання крові (ВЛОК) з довжиною хвилі 0,633 мкм кількістю 10–12 процедур на курс. Радіомодифікуючу дію низькоінтенсивного інфрачервоного випромінювання проводили на проєкцію пухлини та регіонарних лімфовузлів на шкірно методом сканування за 10 хв до ПТ з використанням напівпровідникового лазера «Мустанг» із довжиною хвилі 0,89 мкм, при імпульсному режимі роботи частотою 80 Гц і потужністю імпульсу 5–8 Вт. Час експозиції з 2 випромінювачів становив 128–512 с, кількість сеансів 10–15 для кожного етапу ПТ.

Відразу після проведення укрупнених фракцій ПТ у хворих створювалася короткочасна гіперглікемія шляхом введення 1200–1600 мл 20 % розчину глюкози протягом 90 хв, при цьому рівень цукру в крові становив 16–23 ммоль/л. Протягом усього курсу лікування пацієнти приймали поліензимний препарат «Вобензим» (фірма Mucos-Farma, Німеччина) у дозі 7–10 таблеток по 3 рази на день за 30 хв до їди, паралельно з цим вживали надвисокі дози вітаміну А — 800000 МЕ, вітаміну Е — 0,8 г у вигляді препарату АЕМulsin (фірма Mucos-Farma) тричі на день під час їди разом з аскорбіновою кислотою (добова доза 1–2 г). Всім пацієнтам за 2,0–2,5 год перед кожною з перших укрупнених фракцій опромінення per os давали суспензію метронідазолу на цукровому сиропі з розрахунку 100–150 мг/кг, щоб отримати необхідну концентрацію його в крові. Місцево на шкірні покриви, що потрапляли в зону опромінення, використовували 10 % метилурацилову мазь або «Бальзам 911». У разі необхідності застосовували симптоматичну терапію.

У сироватці крові хворих з онкопатологією, отриманої на початку і в кінці курсу ПТ, вивчали показники системи протеолізу, маркерів апоптозу та імунітету. Визначення трипсиноподібної активності (ТПА) проводили на підставі вимірювання швидкості розщеплення етилового ефіру N- α -бензоіл-L-аргініну (БАЕЕ) (Reanal) [8]. Еластазоподібну активність (ЕПА) визначали шляхом вивчення швидкості гідролізу синтетичного субстрату Nt-вос-аланіл-p-нітрофенілового ефіру (БАНФЕ) [9]. Концентрацію альфа-1-інгібітора протеїназ (α -1-ІП) та кислотостабільних інгібіторів (КСІ) проводили на підставі гальмування розщеплення трипсином етилового ефіру N- α -бензоіл-L-аргініну (БАЕЕ) (Reanal) [10].

З показників апоптозу для визначення були обрані три ключові компоненти, які виявляли методом твердофазного імуноферментного аналізу. Визначали: TNF- α — за допомогою імуноферментного набору «Вектор-Бест» (Росія); Каспазу 8 і p53 — імуноферментних наборів Bender MedSystems (Австрія).

Анти-ЕТ-антитіла класів А, М і G (відповідно анти-ЕТ-IgA, анти-ЕТ-IgM і анти-ЕТ-IgG) виявляли методом твердофазного імуноферментного аналізу [11]; вміст загальних імуноглобулінів класів А, М і G (відповідно IgA, IgM та IgG) у сироватці крові — мікротурбідиметричним методом [12].

Статистична обробка отриманих даних проведена методами варіаційної статистики з обчисленням середніх величин (M) і оцінкою ймовірності розбіжностей (m). При оцінці вірогідності спостережуваних змін відповідних показників використовували t-критерій Стьюдента. Для оцінки ефекту впливу ПТ застосовували непараметричні методи, що включають критерій знаків і парний критерій Вілкоксона.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у хворих зі злоякісними новоутворами спостерігалися зміни показників усіх трьох вивчених систем. Серед показників протеїназ-інгібіторної системи найістотніше збільшувалася активність трипсиноподібних протеїназ і альфа-1-інгібітора протеїназ, вихідні значення яких перевищували рівень контролю від 1,5 до 3 разів ($p < 0,001$). Серед показників апоптозу найбільш динамічно змінювався рівень TNF- α , який в обстежених групах збільшувався в 15–16 разів ($p < 0,001$). При цьому не було виявлено вірогідних змін у рівні каспаз 8 і p53. У стані гуморального та антиендотоксичного імунітету можна виділити підвищення рівня IgA в 1,3–1,4 разу ($p < 0,05$) і, відповідно, анти-ЕТ-IgA в 1,5–2,0 разу ($p < 0,01$).

Результати досліджень стану протеїназ-інгібіторної системи при застосуванні ПТ без та з радіомодифікацією показали, що в обох групах відзначається тенденція до зниження трипсиноподібної активності (табл. 1). Але якщо в групі без радіомодифікації зниження ТПА було на 10 %, то в групі з радіомодифікацією зниження ТПА досягало 33 % і показник втрачав вірогідність відмінності відносно контролю. Еластазоподібна активність у групі з радіомодифікацією підвищувалася, що було вірогідно при викорис-

Таблиця 1

Зміни протеїназ-інгібіторної системи сироватки крові хворих із пухлинами при променевої терапії з радіомодифікацією, $M \pm t$

Група хворих		Показник			
		ТПА, мкмоль/мл · хв	ЕПА, нмоль/мл · хв	α -1-ІП, ІО/мл	КСІ, ІО/мл
Контроль, n = 14		0,220 ± 0,019	196,5 ± 6,5	29,4 ± 0,7	7,74 ± 0,38
ПТ пухлин голови і шиї, n = 7	До ПТ	* 0,713 ± 0,089	204,7 ± 7,2	* 46,9 ± 2,6	* 10,16 ± 0,29
	Після ПТ	* 0,649 ± 0,037	195,4 ± 15,2	*,*** 40,5 ± 1,6	9,71 ± 0,55
ПТ пухлин голови і шиї з радіомодифікацією, n = 11	До ПТ	* 0,537 ± 0,048	186,5 ± 8,1	* 49,9 ± 3,0	8,87 ± 0,32
	Після ПТ	0,403 ± 0,055	*** 196,0 ± 4,1	**,*** 35,7 ± 2,4	8,85 ± 0,29

Примітка: Тут і далі: при $p < 0,05$ вірогідність відмінностей: * — відносно контролю (критерій Стьюдента); ** — до і після ПТ (критерій знаків); *** — $p < 0,05$ до і після ПТ (парний критерій Вілкоксона).

Таблиця 2

Зміни показників апоптозу в сироватці крові хворих із пухлинами при променевої терапії з радіомодифікацією, $M \pm t$

Група хворих		Показник		
		TNF- α , пг/мл	каспаза-8, нг/мл	p53, од/мл
Контроль, n = 14		0,21 ± 0,16	0,048 ± 0,039	1,20 ± 0,63
ПТ пухлин голови і шиї, n = 7	До ПТ	* 3,21 ± 0,74	0	0,50 ± 0,27
	Після ПТ	* 3,91 ± 0,91	0	0,48 ± 0,28
ПТ пухлин голови і шиї з радіомодифікацією, n = 11	До ПТ	* 3,34 ± 0,39	0,193 ± 0,185	0,44 ± 0,27
	Після ПТ	*,*** 5,52 ± 0,28	0,280 ± 0,220	1,06 ± 0,70

Таблиця 3

Зміни рівня імуноглобулінів сироватки крові хворих із пухлинами при променевої терапії з радіомодифікацією, $M \pm t$

Група хворих		Показник		
		Ig A, мг/мл	Ig M, мг/мл	Ig G, мг/мл
Контроль, n = 14		2,78 ± 0,30	2,27 ± 0,32	13,76 ± 1,12
ПТ пухлин голови і шиї, n = 7	До ПТ	* 3,91 ± 0,35	3,16 ± 0,67	13,94 ± 1,63
	Після ПТ	3,64 ± 0,71	3,21 ± 0,65	12,86 ± 1,12
ПТ пухлин голови і шиї з радіомодифікацією, n = 11	До ПТ	3,57 ± 0,36	2,04 ± 0,37	10,70 ± 1,08
	Після ПТ	*** 2,59 ± 0,38	2,36 ± 0,48	* 10,29 ± 1,33

Таблиця 4

Зміни рівня антиендотоксичних антитіл сироватки крові хворих із пухлинами при променевої терапії з радіомодифікацією, $M \pm t$

Група хворих		Показник		
		Анти-ЕТ-Ig A, мг/мл	Анти-ЕТ-Ig M, мг/мл	Анти-ЕТ-Ig G, мг/мл
Контроль, n = 14		0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,31 ± 0,03
ПТ пухлин голови і шиї, n = 7	До ПТ	* 0,36 ± 0,06	0,15 ± 0,04	0,36 ± 0,05
	Після ПТ	*,*** 0,33 ± 0,05	0,16 ± 0,05	*** 0,32 ± 0,04
ПТ пухлин голови і шиї з радіомодифікацією, n = 11	До ПТ	0,31 ± 0,10	0,19 ± 0,05	0,57 ± 0,16
	Після ПТ	*** 0,27 ± 0,10	*,*** 0,14 ± 0,03	0,51 ± 0,13

танні для аналізу критерію знаків. Аналіз змін інгібіторного потенціалу показав, що кислотостабільні інгібітори практично не реагували на використання променевої терапії. А в стані альфа-1-інгібітора протеїназ відзначена характерна тенденція зниження рівня після ПТ, причому в контрольній групі зниження α -1-ІП становило 16 %, а в групі з радіомодифіка-

цією було вже 40 %. Це зниження підтверджувалося як парним критерієм Вілкоксона, так і критерієм Стьюдента, а значення інгібітора втрачало вірогідну відмінність відносно контролю.

Серед показників, віднесених до групи маркерів апоптозу, не відзначено вірогідних тенденцій зрушень каспази 8 і p53 (табл. 2). Водночас рівень TNF- α при

дії ПТ збільшувався, причому в групі з радіомодифікацією більш виражено. У групі без радіомодифікації TNF- α після ПТ ставав вище на 21 %, а в групі із застосуванням радіомодифікуючих впливів — на 65 %, що підтверджувалося вірогідністю при використанні критерію знаків.

Оцінка реакції показників гуморального та антиендотоксिनного імунітету показала, що при застосуванні ПТ відзначається тенденція до зниження показників. При застосуванні ПТ з радіомодифікацією на 28 % знизився рівень IgA, а IgG досяг вірогідних відмінностей з контролем ($p < 0,05$) (табл. 3). Відзначено і зниження рівня антиендотоксिनних антитіл, причому як в групі з застосуванням, так і без застосування радіомодифікації (табл. 4). Рівень анти-ET-IgA вірогідно знижувався на 8 % без застосування радіомодифікації і на 13 % з її застосуванням. Крім того, у групі без застосування радіомодифікації відмічено вірогідне зниження на 11 % анти-ET-IgG, а в групі з радіомодифікацією на 26 % анти-ET-IgM.

Отримані результати свідчать, що використання запропонованої схеми радіомодифікації в лікуванні пухлин приводить до ряду змін більш виражених, ніж у групі без застосування радіомодифікуючих впливів. Серед них варто виділити більш виражене зниження активності трипсиноподібних протеїназ та рівня альфа-1-інгібітора протеїназ у сироватці крові хворих. Крім того, відзначається інтенсивніше зростання рівня TNF- α у хворих з радіомодифікацією. У зміні показників гуморального та антиендотоксिनного імунітету можна відзначити загальну тенденцію до зниження показників при ПТ в обох групах.

Наведені зрушення в протеїназ-інгібіторній системі і рівні TNF- α відповідають змінам, продемонстрованим нами раніше як реакції на ПТ [13] й оцінені з точки зору її ефективності. Виходячи з цього можна припустити, що здійснення радіомодифікації при застосуванні ПТ сприяє досягненню більшої ефективності від проведеного лікування, що можна оцінювати за ступенем нормалізації показників протеолізу та зростанню рівня TNF- α . Зниження показників гуморального та антиендотоксिनного імунітету в обох групах можна більшою мірою розцінювати як пригнічення імунних механізмів, а не зниження антиендотоксिनної агресії. Подальше вивчення змін у стані гуморальних систем і реакції окремих компонентів при застосуванні променевої і хемотерапії дозволить розкрити механізми радіомодифікуючих впливів та можливість використання їх визначення для оцінки ефективності проведеного лікування.

Література

1. *Руководство по онкологии / Под ред. В.И.Чиссова, С.Л.Дарьяловой. – МИА. – М., 2008. – 840 с.*
2. Антонов В.Г., Козлов В.К. // *Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, №1. – С. 8–19.*
3. Бебешко В.Г., Базыка Д.А., Логановский К.Н. // *Укр. мед. часоп. – 2004. – № 1 (39) – I/II. – С. 11–14.*
4. Кубышкин В.А., Паленая Ю.В., Кубышкин А.В., Опрышко В.В // *Загальна патол. та патол. фізіол. – 2007. – № 1. – С. 9–16.*

5. Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A.J. // *Mol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 19, № 3. – P. 279–296.*
6. Hengartner M.O. // *Nature. – 2000. – 407. – P. 770–776.*
7. Skrzydlewska E., Sulowska M., Koda M., Sulowski S. // *World J. Gastroenterol. – 2005. – № 11 (9). – P. 1251–1266.*
8. Кринская А.В., Пасхина Т.С. *Количественное определение калликреина и калликреиногена в сыворотке (плазме) крови человека // Современные методы биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 163–170.*
9. Оглоблина О.Г., Платонова Л.В., Мясникова Л.В., Лившиц М.Б., Пасхина Т.С. // *Вопр. мед. химии. – 1980. – № 3. – С. 387–392.*
10. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. *Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Там же. – 1979. – № 4. – С. 494–499.*
11. Гордиенко А.И. // *Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 6. – С. 130–135.*
12. Гордиенко А.И., Белоглазов В.А. // *Имунол. та алергол. – 2000. – № 1. – С. 12–15.*
13. Кубышкин В.А. *Факторы апоптоза и протеолиза как маркеры эффективности лучевой терапии злокачественных новообразований // Актуальные проблемы госпитальной медицины. – Севастополь, 2009. – С. 71–72.*

Д.С. Мечев, В.П. Івчук, Т.М. Говоруха

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ,

Київська міська онкологічна лікарня

Сучасні підходи до променевої та супровідної терапії внутрішньомозкових злоякісних гліом

Contemporary approaches to radiation and accompanying therapy for intracerebral malignant gliomas

Summary. The analysis of the results of complex treatment of 212 patients with intracerebral gliomas and astrocytomas allowed to suggest an effective protocol, including radical surgery, modified hyperfractionated radiotherapy, the use of chemotherapy (Temodal, Xeloda) as radiomodifiers as well as target therapy (Avastin) with monoclonal antibodies.

Mean survival median of the patients with gliomas at the above approach to the treatment makes 3.5 years, those with astrocytomas — 4 years.

Key words: highly malignant brain tumors, hyperfractionated radiation therapy, radiosurgery, radiomodification, target therapy.

Резюме. На основании анализа результатов комплексного лечения 212 больных с внутримозговыми глиомами и астроцитомами предлагается наиболее эффективная схема, включающая радикальное хирургическое вмешательство; модифицированную гиперфракционную радиотерапию; использование химиопрепаратов (темодал, кселода) в качестве радиомодификаторов, а также таргетной терапии (авастин) моноклональными антителами.

Средняя медиана выживаемости больных глиомами при описанном подходе к лечению составляет ~ 3,5 года, а с астроцитомами - 4 года.

Ключевые слова: высокозлокачественные опухоли головного мозга, гиперфракционированная лучевая терапия, радиохирургия, радиомодификация, таргетная терапия.

Ключові слова: високозлоякісні пухлини головного мозку, гіперфракціонована променева терапія, радіохірургія, радіомодифікація, таргетна терапія.

Найбільш поширеними пухлинами головного мозку визнано гліоми. Серед гліом найчастіше зустріча-