

*В.А. КАШИРИН***ДИНАМИКА МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА И TGF- $\beta_1$   
ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ***Запорож. мед. академия последиплом. образования*

Злокачественные новообразования вызывают в организме каскад биологических реакций, кардинально меняющих функционирование противоопухолевой защиты – от выраженной ее активации до переключения на содействие прогрессированию опухоли (Н.М. Бережная, 1997; Н.В. Васильев, 1998; Т.Н. Попович, 2000). При этом роль агентов, участвующих в реализации указанных изменений, носит противоречивый, зачастую взаимоисключающий характер. К примеру, оксид азота (NO) в физиологических условиях отвечает за регуляцию гемодинамики, центральной и вегетативной нервной системы, обладает антиагрегационными свойствами, участвует в пуриновом обмене и определяет процессы синтеза белка клетками. Вместе с тем высокие концентрации оксида азота оказывают прямое цитотоксическое и иммуногенное действие, а соединяясь с супероксидом, он образует пероксинитрит, который ингибирует ферменты, индуцирует повреждение ДНК, мутации и апоптоз. Таким образом, высокие концентрации оксида азота являются фактором эндогенной интоксикации и играют важную роль в течении и исходе критических состояний (П.П. Голиков и соавт., 2000, 2003; Т.В. Звягина и соавт., 2003).

Неоднозначна роль оксида азота и в канцерогенезе. В ответ на гипоксический стресс, сопровождающий прогрессирование опухоли, окружающие новообразование нормальные эпителиальные клетки, активированные макрофаги увеличивают выделение оксида азота, оказывая тем самым деструктивное воздействие на неоттрансформированные клетки. Однако мультипотентность биологической активности этого радикала-медиатора может приводить не только к ин-

гибиции пролиферации и уничтожению опухолевых клеток, но и способствует неоваскуляризации новообразования, ускоряет его метастазирование (С.Я. Проскурякова и соавт., 2000).

Противоречивы и данные о роли в канцерогенезе трансформирующего фактора роста – бета (TGF- $\beta$ ), который является прототипом мультифункциональных сигнальных молекул (цитокинов) и играет важную регуляторную роль в процессах клеточного роста, дифференциации, репарации соматической ткани и модуляции иммунного ответа (М.В. Благосклонный, 1991; В.А. Барилка и соавт., 2004; О.П. Гладких и соавт., 2004).

Источниками TGF- $\beta$  являются активированные моноциты, макрофаги и Th<sub>3</sub>-лимфоциты, но и стромальные клетки, регулирующие рост и дифференцировку эпителиальных клеток, продуцируют TGF- $\beta$ . В свою очередь, TGF- $\beta$  непосредственно стимулирует синтез матриксальных молекул и блокирует разрушение матрикса (Roberts A.V. et al., 1992; Moses et al., 1994; Walker R.A. et al., 1994). Основное количество секретированного TGF- $\beta$  инактивируется и депонируется в соединительной ткани. Активированные же его формы способны оказывать диаметрально противоположное действие на биологические процессы, могут не только стимулировать, но и ингибировать пролиферацию и дифференцировку клеток. Причем в ряде случаев TGF- $\beta$  оказывает настолько сильное ингибирующее влияние на пролиферацию клеток, в том числе и опухолевых, что это позволяет предусматривать его практическое применение в медицине (А.А. Фильченков и соавт., 1994; Ф.С. Стойка, 2002).

Несмотря на то, что TGF- $\beta$  является ингибитором роста эпителиальных клеток, многие опухоли продуцируют этот фактор, который играет важную роль в патофизиологии рака, индуцируя развитие стромы и ангиогенез.

**Целью работы** было изучение у больных раком гортани динамики показателей трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta_1$ ) и метаболитов оксида азота (NO) при одном комбинированном лечении, а также при его дополнении активационной терапией с использованием антигомотоксических препаратов.

### **Материалы и методы**

В сравнительные исследования вошли 65 больных (1-я группа – 32 человека, прошедших комбинированное лечение; 2-я – 33 прошедших комбинированное лечение и активационную терапию – АТ) с морфологически подтвержденным диагнозом рака гортани категории T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>. Группу сравнения составили 36 практически здоровых лиц (доноры, мужчины в возрасте 35-45 лет).

В зависимости от локализации и распространенности новообразования у пациентов выполнялась ларингэктомия или различные виды функциональной резекции гортани.

Лучевая терапия проводилась по методике дробного фракционирования – по 2 Гр 5 раз в неделю (СОД 40-60 Гр).

Активационная терапия в первые 6 мес осуществлялась препаратами Adrenalin D10, Cerebrum comp., Psorinoheel, Lymphomyosot, Traumeel S, Galium, Coenzyme comp., Ubihinon comp., Thyreoida comp., Нераг comp. (В.А. Каширин, 2003; В.А. Каширин, Л.Л. Воронцова, 2004).

TGF- $\beta_1$  исследовался по методу ИФА (ILISE) набором DRG Diagnostic (Hamburg, Germany). Определялось количество NO-синтазы и конечного метаболита NO<sub>2</sub> по методу Грисса в плазме крови.

Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Exell. Данные представлены в виде M $\pm$ m. Применялись методы непараметрической статистики. Различия считались достоверными при p<0,05.

### **Результаты и их обсуждение**

У всех пациентов до начала лечения при умеренном снижении показателей NO-синтазы (NO-с) и NO<sub>2</sub> отмечена гиперпродукция TGF- $\beta_1$ , превышающая контрольные данные в 2,3 раза (34,0 $\pm$ 0,3  $\rightarrow$  77,2 $\pm$ 0,2). Рассматривая рак гортани категории T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub> как далеко зашедший опухолевый процесс, полученные данные следует расценивать как неблагоприятные, способствующие прогрессированию новообразования.

Через месяц исследуемые показатели у больных 1-й группы характеризовались увеличением NO-с и NO<sub>2</sub> при снижении TGF- $\beta_1$ . Аналогичная тенденция прослеживалась и к концу 3-го месяца (завершение курса лучевой терапии), когда уровни NO-с и NO<sub>2</sub> резко возросли в сравнении с исходными данными (16,5 $\pm$ 0,5  $\rightarrow$  27,5 $\pm$ 1,4 и 12,4 $\pm$ 0,4  $\rightarrow$  20,7 $\pm$ 0,5, соответственно). При этом содержание TGF- $\beta_1$  приблизилось к показателям контроля. Такая картина характерна для проводимой лучевой терапии. Кроме того, на этом этапе исследований первичный опухолевый очаг уже был удален и продуцирование TGF- $\beta_1$  опухолевыми клетками практически исключено.

Через 6 мес вновь отмечалось повышение уровня TGF- $\beta_1$  (61,0 $\pm$ 0,6) при снижении NO-с и NO<sub>2</sub> с приближением к показателям в группе доноров, что можно связать с окончанием воздействия лучевой терапии. Через 1 год, при относительной стабильности значений NO-с и NO<sub>2</sub>, определено уменьшение содержания TGF- $\beta_1$  до 27,3 $\pm$ 0,2 (табл. 1).

У больных 2-й группы, с учетом временной динамики, исследования позволили выявить относительно плавное увеличение всех анализируемых показателей: NO-с – 21,4 $\pm$ 2,0  $\rightarrow$  24,4 $\pm$ 1,7  $\rightarrow$  26,9 $\pm$ 3,4; NO<sub>2</sub> – 14,2 $\pm$ 0,5  $\rightarrow$  20,1 $\pm$ 1,1  $\rightarrow$  21,1 $\pm$ 2,7; TGF- $\beta_1$  – 102,5 $\pm$ 0,4  $\rightarrow$  110,7 $\pm$ 0,5  $\rightarrow$  114 $\pm$ 0,4. Повышение содержания TGF- $\beta_1$ , возможно, объясняется запуском вспомогательной иммунологической реакции, суть которой заключается во взаимодействии потенцированных лекарственных веществ с «наивными» лимфоцитами, в результате чего последние дифференцируются в Th<sub>3</sub>-лимфоциты, запуская синтез TGF- $\beta_1$  (Х. Хойне, 1998).

Через год от начала терапии отмечалась тенденция к нормализации показателей NO-с и NO<sub>2</sub>, по отношению к их значениям в группе доноров, на фоне снижения продукции TGF-β<sub>1</sub> (табл. 1).

Данные литературы свидетельствуют о том, что гиперпродукция NO обеспечивает защиту организма-«хозяина» от злокачественных новообразований, ингибируя цитохромные ферменты, ферменты

цикла Кребса, синтез ДНК и является «карающим мечом» иммунной системы (И.Ю. Малышев, 1997; С.Я. Проскуракова и соавт., 2000). Вместе с тем и повышенное содержание TGF-β<sub>1</sub> вызывает гибель опухолевых клеток, причем потенцирующее влияние на ингибирующее рост действие TGF-β<sub>1</sub> оказывает активация окислительных процессов (А.А. Фильченков и соавт., 1994).

Таблица 1

Динамика содержания метаболитов NO и TGF-β<sub>1</sub> у больных раком гортани при комбинированном лечении

| Тест                       | Группа | Изучаемые показатели (M±m) |                           |           |          |          |
|----------------------------|--------|----------------------------|---------------------------|-----------|----------|----------|
|                            |        | до лечения                 | период наблюдения (месяц) |           |          |          |
|                            |        |                            | 1-й                       | 3-й       | 6-й      | 12-й     |
| NO-с, нмоль / л/ч          | 1-я    | 16,5±0,5                   | 25,1±2,7                  | 27,5±1,4  | 20,0±0,7 | 21,3±0,9 |
|                            | 2-я    |                            | 21,4±2,0                  | 24,4±1,7  | 26,9±3,4 | 19,3±1,5 |
| NO <sub>2</sub> , мкмоль/л | 1-я    | 12,4±0,4                   | 18,0±2,1                  | 20,7±0,5  | 14,5±0,4 | 13,4±0,3 |
|                            | 2-я    |                            | 14,2±0,5                  | 20,1±1,1  | 21,1±2,7 | 17,0±1,8 |
| TGF-β <sub>1</sub> , пг/мл | 1-я    | 77,2±0,2                   | 41,1±0,4                  | 37,4±0,7  | 61,0±0,6 | 27,3±0,2 |
|                            | 2-я    |                            | 102,5±0,4                 | 110,7±0,5 | 114±0,4  | 25,4±0,1 |

С целью подтверждения приведенных данных при клинических исследованиях, вне зависимости от вида проведенного лечения, больные были подразделены на две группы:

1) группа А – обследуемые, у которых продолженный рост, рецидивы, метастазы новообразования были определены в первые 6-18 мес с момента начала лечения;

2) группа Б – с положительным показателем пятилетней безрецидивной выживаемости.

Анализ усредненных величин содержания (1-6 мес наблюдения) NO-с, NO<sub>2</sub>,

TGF-β<sub>1</sub> четко указывает на статистически достоверное их повышение в группе Б по сравнению с группой А (табл. 2). К этому необходимо добавить, что ретроспективный анализ эффективности лечения (164 больных – комбинированное лечение, 82 – комбинированное лечение, дополненное 2-3 курсами активационной терапии с использованием антигомотоксических препаратов) свидетельствует о том, что применение активационной терапии позволяет на 10,9% повысить показатель пятилетней безрецидивной выживаемости.

Таблица 2

Содержание метаболитов NO и TGF-β<sub>1</sub> в зависимости от результатов лечения больных раком гортани

| Тест                       | Изучаемые показатели у обследуемых лиц, M±m |            |               |          |
|----------------------------|---|------------|---------------|----------|
|                            | доноры                                      | до лечения | больные       |          |
|                            |   |            | после лечения |          |
|                            |   |            | группа А      | группа Б |
| NO-с, нмоль/л/ч            | 18,2±0,3                                    | 16,5±0,5   | 17,2±0,2      | 27,8±0,3 |
| NO <sub>2</sub> , мкмоль/л | 16,4±0,3                                    | 12,4±0,4   | 11,4±0,1      | 24,7±0,3 |
| TGF-β <sub>1</sub> , пг/мл | 34,0±0,3                                    | 77,2±0,2   | 42,5±0,2      | 86,3±0,5 |

### Выводы

1) Снижение содержания метаболитов оксида азота (NO-с и NO<sub>2</sub>) на фоне гиперпродукции TGF-β<sub>1</sub> присуще больным раком гортани категории T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub> и является признаком прогрессирования опухоли.

2) Комбинированное лечение, дополненное проведением активационной тера-

пии, включает на фоне активации окислительных процессов гиперпродукцию трансформирующего фактора роста β<sub>1</sub>.

3) Сочетанное увеличение содержания NO-с, NO<sub>2</sub> и TGF-β<sub>1</sub> является положительным прогностическим признаком при лечении пациентов с раковыми опухолями гортани.

1. Барилка В.А., Матлан В.Л., Володько Н.А., Пиддубняк В.А., Гипп И.Г., Олексяк О.О., Билынский Б.Т., Логинский В.Е. Определение содержания трансформирующего фактора роста β<sub>1</sub> в плазме крови онкологических и гематоонкологических больных биологическим методом // Лаб. диагностика. – 2004. – №3. – С. 15-20.
2. Бережная Н.М. Иммунология и иммунотерапия злокачественных новообразований // Журн. практ. врача. – 1997. – № 4. – С. 11-14.
3. Благодосклонный М.В. Факторы роста и клеточные механизмы поведения доброкачественных и злокачественных опухолей и нормальных тканей // Успехи совр. биологии. – 1991. – Т. 111, Вып. 2. – С. 260-275.
4. Васильев Н.В. О некоторых спорных проблемах онкоиммунологии // Вопр. онкологии. – 1998. – №4. – С. 472-476.
5. Гладских О.П., Данилова Т.И., Кузнецова А.В., Иванов А.А., Андреева Ю.Ю., Алексеев Б.Я., Франк Г.А., Пальцев М.А. Роль трансформирующего фактора роста β<sub>1</sub> в регуляции инвазивного роста аденокарциномы предстательной железы // Арх. патологии. – 2004. – №3. – С. 27-30.
6. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А., Матвеев С.Б., Давыдов Б.В., Марченко В.В., Смирнов С.В., Лебедев В.В., Голиков А.П. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2000. – №2. – С. 6-9.
7. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Картавенко В.И., Мусселиус С.Г., Олейникова О.Н., Тихомирова Н.И., Стоцкая Т.В., Давыдов Б.В., Матвеев С.Б. Генерация оксида азота лейкоцитами периферической крови в норме и при патологии // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2003. – №4. – С. 11-13.
8. Звягина Т.В., Синяченко О.В., Гринь В.К., Дьякова И.Н., Николенко Ю.И. Уровень метаболитов оксида азота в крови при экспериментальном аутоиммунном заболевании в процессе иммунодепрессивной терапии // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2003. – №1. – С. 32-33.
9. Каширин В.А., Воронцова Л.Л. Иммунорегуляторный эффект антигомтоксической терапии при комплексном лечении больных раком гортани // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2004. – №3. – С. – 36-42.
10. Каширин В.А. Антигомтоксическая терапия в ЛОР-онкологии // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2003. – №3-с. – С. 106.
11. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии. – 1997. – №1. – С. 49-55.
12. Поповская Т.Н. Иммунология рака. Современные представления и противоречия // Международ. мед. журн. – 2000. – №1. – С. 80- 84.
13. Проскуракова С.Я., Конопляникова А.Г., Иванников А.И., Скворцов В.Г., Цыб А.Ф. Оксид азота и терапия злокачественных новообразований // Рос. онкол. журн. – 2000. – №3. – С. 41-45.
14. Стойка Р.С. Трансформувальний фактор росту бета (ТФР-β) у канцерогенезі // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, №4а. – С. 17-18.
15. Фильченков А.А., Стойка Р.С., Быкорез А.И. Трансформирующие факторы роста. – Киев, 1994. – 290 с.
16. Хайне Х. Запуск вспомогательных иммунологических реакций при проведении антигомтоксической терапии воспалений суставов // Биол. терапия. – 1998. – №4. – С. 12-14.
17. Moses H.L., Arteaga C.L., Alexandrow M.G. et al. TGF beta regulation of cell proliferation // Princes Takamatsu Symposia. – 1994. – Vol. 24. – P. 250-263.
18. Roberts A.B., McCune B.K., Sporn M.B. TGF-β: regulation of extracellular matrix // Kidney Int. – 1992. – №41. – P. 557-559.
19. Walker R.A., Dearing S.J., Gallacher B. Relationship of transforming growth factor-beta 1 to extracellular matrix and stromal infiltrates in invasive breast carcinoma // Br. J. Cancer. – 1994. – Vol. 69. – №6. – P. 1160-1165.

Поступила в редакцию 03.07.06.

**ДИНАМІКА МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ  
ТА TGF-β<sub>1</sub> ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА  
РАК ГОРТАНІ**

*Каширін В.О. (Запоріжжя)*

*Резюме*

Проведено дослідження показників системи імунітету (TGF-β<sub>1</sub>) та метаболітів оксиду азоту (NO-с, NO<sub>2</sub>) при комбінованому лікуванні, яке супроводжувалось активаційною терапією антигомотоксичними препаратами, у хворих на рак гортані категорії T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>. Порівняльний аналіз результатів показав, що у пацієнтів, які одержували лише комбіноване лікування, основною ланкою захисту є NO – система. У хворих, у котрих комбіноване лікування супроводжувалось активаційною терапією, ця функція доповнювалась підвищенням синтезу TGF-β<sub>1</sub>. Оцінка досліджуваних показників може використовуватись як імунологічний та прогностичний критерій розвитку хвороби.

**THE DINAMICS OF METABOLITES OXIDE  
NITROGEN AND TGF-β<sub>1</sub> ON THE  
TREATMENT OF PATIENTS WITH THE  
LARYNGEAL CANCER**

*Kashirin V.A. (Zaporozhye)*

*Summary*

The research of index of the immune system – TGF-β<sub>1</sub> and metabolites NO system (NO-synthetaze and NO<sub>2</sub>) – at patients with the laryngeal cancer of the T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>, getting the combinative treatment and activate therapy with antihomotoxic preparations has been conducted. The comparative analysis showed that at patients getting combinative treatment only, the basic link of defense from tumor cells there was the NO system. At patients who getting the combinative treatment and activate therapy the basic link of defense from tumor cells there was the NO system and increased TGF-β<sub>1</sub> synthesis. The estimation of the explored indexes can be used for making of immunological and prognostic criteria of motion of disease.