

# Ингибиторы протеолиза в ликворе больных злокачественными глиомами после двух видов локальной интраоперационной химиотерапии

КОЗЛОВА Л. С., ФРАНЦИЯНЦ Е. М., АТМАЧИДИ Д. П., ГОРБУНОВА Т. А.

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Контактная информация:

\*Козлова Лариса Степановна: e-mail: super.gormon@yandex.ru, тел:+7 (909) 427-74-71

\*Contact person:

\*Kozlova Larisa Stepanovna: e-mail: super.gormon@yandex.ru

Kozlova Larisa Stepanovna, Frantsiyants Elena Mikhaylovna,

Atmachidi Dmitri Panayotovitch, Gorbunova Tatiana Aleksandrovna

FSBI «Rostov Research Oncological Institute» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don,

e-mail: super.gormon@yandex.ru

Реферат. Исследован ликвор 52 оперированных больных злокачественными глиомами (Т 2–3NхMo) с целью изучения острофазных  $\alpha$ -2-макроглобулина ( $\alpha$ -2М) и  $\alpha$ -1-протеиназного ингибитора ( $\alpha$ -1ПИ) при двух видах локальной интраоперационной химиотерапии (ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2). Определяли  $\alpha$ -2М и  $\alpha$ -1ПИ до ЛИХТ (фон), а также на 7 сутки, через 1 и 2 месяца послеоперационного (п/о) периода методом иммуноферментного анализа на стандартных тест-наборах. Контролем служил ликвор 9 больных, у которых исключён воспалительный и/или злокачественный процесс в мозге. Гендерные и возрастные различия в ликворе не установлены. При каждом способе лечения установлена различная реакция больных на ЛИХТ, в связи с чем выделены отдельные группы с неблагоприятным и благоприятным течением послеоперационного периода. На 7 сутки п/о в группах после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 с неблагоприятным течением послеоперационного периода  $\alpha$ -2М при обоих видах терапии был достоверно ниже, чем в обеих группах с благоприятным послеоперационным периодом;  $\alpha$ -1ПИ на 7 сутки после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 в группах с отрицательной динамикой был достоверно выше, чем в группах с положительной динамикой, фона и контрольного ликвора. Через 2 месяца после ЛИХТ-1 в 18,5% случаев из 27 больных наблюдали продолженный рост опухоли с летальным исходом, у остальных выживших активность  $\alpha$ -2М оставалась высокой. Через 2 месяца после ЛИХТ-2 количество  $\alpha$ -2М в ликворе больных снижалось, относительно предыдущего периода и фона ( $p < 0,01$  во всех случаях), оставаясь достоверно выше данных контрольного ликвора, летальных исходов в этот период не зарегистрировано. Через 2 месяца  $\alpha$ -1ПИ в ликворе больных с отрицательной динамикой после ЛИХТ-1 оставался выше контроля на 38,8%, а после ЛИХТ-2 он был ниже контроля на 24,1%. В обеих группах с положительной динамикой  $\alpha$ -1ПИ соответствовал условной норме контрольной группы. Длительное сохранение высокой ингибиторной ёмкости ликвора или снижение её ниже условной нормы свидетельствует о локальном воспалении или о возможности продолженного роста опухоли и может служить прогностическим фактором для раннего определения тяжести состояния больного в п/о период. ЛИХТ-2 оказалась более успешной, поскольку все больные выжили, неврологического дефицита не наблюдалось.

**Ключевые слова:** злокачественные глиомы, локальная химиотерапия, ингибиторы

Исследования ликвора обладают особой диагностической ценностью при онкологических заболеваниях центральной нервной системы, поскольку он является внутренней средой мозга и отражает его метаболизм [1]. Ингибиторная ёмкость биологического материала является обязательной формой эндогенного контроля протеолиза. Повышенная активность протеиназ может вызывать рефлекторное увеличение ингибиторного ответа, как контролирующего фактора. С другой стороны, повышение или снижение активности ингибиторов может быть и первичным, т.к.  $\alpha$ -2-макроглобулин ( $\alpha$ -2М) и  $\alpha$ -1-протеиназный ингибитор ( $\alpha$ -1ПИ) являются острофазными белками [2,3]. Ингибитор  $\alpha$ -2М является полифункциональным белком, способным связывать широкий спектр цитокинов и практически все известные протеолитические ферменты [Зорина В.Н. и соавт., 2009]. Активность  $\alpha$ -1ПИ давно уже рассматривается как важный показатель противоопухолевой защиты организма [4]. Изменения указанных эндогенных ингибиторов, как острофазных белков, могут дать информацию об эффективности ло-

кальной интраоперационной (1) и сочетанной с послеоперационной (2) химиотерапии (ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2).

## Цель исследования

Изучение динамики универсальных эндогенных ингибиторов ликвора при двух различных способах локальной химиотерапии злокачественных глиом.

## Материалы и методы

В ликворе 52 больных злокачественными глиомами (33 мужчин, 19 женщин, 28–56 лет, Т 2–3NхMo) определяли  $\alpha$ -2М и  $\alpha$ -1ПИ до ЛИХТ (фон), а также на 7 сутки, через 1 и 2 месяца послеоперационного периода. Содержание ЛИХТ-1: 0,2 мг карбоплатина вносили в контейнер из гемостатической губки, производили гемостаз и помещали в ложе удалённой опухоли (27 больных). Содержание

ЛИХТ-2: интраоперационно, через резервуар Оттауа в ложе удалённой опухоли вводили 0,4 мг цисплатина и 15 мг метотрексата, повторяли ещё 2 раза с интервалом в 1 месяц (25 больных). Взятие ликвора производили люмбальной пункцией на 7 день после введения препаратов, общепринятым методом с целью снижения внутричерепного давления, получив предварительно согласие больных. Полученный биологический материал в нативном состоянии немедленно использовали для исследований, при необходимости его сохраняли при  $-20^{\circ}\text{C}$ не более 1 месяца. Определение эндогенных ингибиторов осуществляли методом иммуноферментного анализа на стандартных тест-наборах. Контролем служил ликвор 9 больных (6 мужчин 3 женщины, 23–52 лет) у которых исключён воспалительный и/или злокачественный процесс в мозге. Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили при помощи пакета сертифицированных прикладных программ Statistica v. 7 и Microsoft Excel XP. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента.

## Результаты и их обсуждение

Злокачественные глиомы локализовались в больших полушариях головного мозга. Исследование эндогенных ингибиторов в ликворе до начала операции и лечения (фон) не выявило существенной разницы величин между большими разного возраста контрольной группы, а также поступившими на лечение ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2. Гендерные различия в содержании эндогенных ингибиторов также не установлены в ликворе, как контрольной группы, так и группы больных, имеющих злокачественную глиому. В ликворе контрольной группы обнаружены следы  $\alpha$ -2М (у 4 больных от 0,02 до 0,08 мг/л и у 5 больных  $\alpha$ -2М не определялся, в среднем  $-0,06 \pm 0,001$  мг/л) и довольно высокое содержание  $\alpha$ -1ПИ. При злокачественной глиоме количество  $\alpha$ -2М и  $\alpha$ -1ПИ в ликворе до начала лечения (фон) было увеличено в 9 раз и в 1,8 раза, соответственно, сравнительно с контрольной группой (табл. 1,2).

На 7 сутки после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 количество  $\alpha$ -2М у всех больных оставалось выше, чем в контрольном ликворе, но было ниже данных до лечения (рис. 1,  $p < 0,01$ ). Было отмечено различное течение послеоперационного периода: у ряда больных сохранялась повышенная температура тела, головные боли, головокружения, небольшой неврологический дефицит. В связи с этим, больные разделены на группы: 1 — после ЛИХТ-1 и 3 — после ЛИХТ-2 — неблагоприятное течение (13 и 9 человек, соответственно); 2 — после ЛИХТ-1 и 4 — после ЛИХТ-2 — благоприятное течение (по 15 человек в каждой группе). В группах 1 и 3 с неблагоприятным течением послеоперационного периода  $\alpha$ -2М при обоих видах терапии был ниже, чем в группах 2 и 4 с благоприятным послеоперационным периодом (табл. 1,2).

Через 1 месяц после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2  $\alpha$ -2М практически не изменился, сравнительно с 7 сутками, но после ЛИХТ-2 содержание  $\alpha$ -2М было достоверно ниже, чем после ЛИХТ-1 (табл. 1,2).

Через 2 месяца после ЛИХТ-1 в 22,7% случаев из 22 больных наблюдали продолженный рост опухоли с ле-

тальным исходом (5 из 13 больных 1 группы), у остальных — активность  $\alpha$ -2М оставалась высокой. Через 2 месяца после ЛИХТ-2 количество  $\alpha$ -2М в ликворе больных снижалось, относительно предыдущего периода и фона ( $p < 0,01$  во всех случаях), оставаясь достоверно выше данных контрольного ликвора, летальных исходов в этот период не зарегистрировано.

Содержание  $\alpha$ -1ПИ на 7 сутки после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 в группах 1 и 3 (с отрицательной динамикой) было выше, чем в группах 2 и 4 (с положительной динамикой), фона и контрольного ликвора (табл. 1,2).

Через 1 месяц  $\alpha$ -1ПИ в ликворе больных 1 и 3 групп (после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2) оставался на уровне фона. У больных 2 группы (ЛИХТ-1)  $\alpha$ -1ПИ практически соответствовал данным контрольного ликвора, а в ликворе 4 группы (ЛИХТ-2) в этот срок отмечалось возрастание  $\alpha$ -1ПИ на 31,0%.

Через 2 месяца  $\alpha$ -1ПИ в ликворе больных 1 группы (после ЛИХТ-1) оставался выше контроля на 38,8%, в 3 группе (после ЛИХТ-2) он был ниже контроля на 24,1%, а во 2 и 4 группах — соответствовал условной норме контрольной группы (табл. 1,2).

Локальная антибластическая терапия является одним из наиболее перспективных направлений в комплексном лечении злокачественных глиом головного мозга. Сравнительный анализ изменений универсальных ингибиторов ликвора во 2 (ЛИХТ-1) и 4 (ЛИХТ-2) группах пациентов, а также сопоставление этих данных с отдельными симптомами и тяжестью состояния больных выявили закономерную связь с клинической картиной: состояние больных постепенно улучшалось. Динамика  $\alpha$ -2М у больных после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 при тяжёлом и благоприятном течении послеоперационного периода была сходной, но амплитуда изменений была разной (табл. 1,2). Динамика  $\alpha$ -1ПИ в ликворе больных после ЛИХТ-1 и ЛИХТ-2 различалась при тяжёлом и благоприятном течении послеоперационного периода. Достоверные различия амплитуды и динамики определяемых ингибиторов могли быть связаны с различными ритмом и интенсивностью воздействия применяемых видов терапии. Однократное воздействие ЛИХТ-1, очевидно, оказывалось недостаточным для подавления токсического влияния остаточных фрагментов опухоли в 1 и 2 месяца после её удаления. Возрастание количества ингибиторов к концу 2 месяца, при тяжёлом течении послеоперационного периода наблюдения после ЛИХТ-1, могло свидетельствовать о развитии локального воспаления или продолженном росте опухоли. Трёхкратное воздействие ЛИХТ-2 могло обеспечить прекращение секреции модифицированных опухолью белков [2,3], что стимулировало выработку эндогенных ингибиторов.

Повышенное содержание  $\alpha$ -2М обычно свидетельствует о наличии воспалительного процесса в ткани [2]. Истощение  $\alpha$ -1ПИ у больных с тяжёлым течением послеоперационного периода после ЛИХТ-2 может свидетельствовать о недостаточной выработке эндогенного белка при отсутствии ингибитора опухолевого происхождения или модификации его свойств опухолью [4]. Только нормализация  $\alpha$ -1ПИ и умеренная активность  $\alpha$ -2М, очевидно, оказывают благоприятное воздействие на структуры мозга в послеоперационный период. Это подтверждает необ-

Таблица 1. Динамика эндогенных ингибиторов в ликворе больных злокачественной глиомой при ЛИХТ-1

Сроки	Качество течения п/о периода	$\alpha$ -2М мг/мл	$\alpha$ -1ПИ г/мл	% летальности
Контроль (условная норма)		0,06±0,001	59,08±2,3	
До лечения ЛИХТ-1		0,541±0,031	104,5±7,62 1	
7 сутки п/о	Неблагоприятное 1гр	0,269±0,08 1,2	167,9±2,4 1,2	
	Благоприятное 2гр	0,460±0,01 1,2 (p<0,05),3	71,93±2,9 1,2,3	
1 месяц п/о	Неблагоприятное 1гр	0,274±0,02 1,2	95,9±9,7 1	
	Благоприятное 2гр	0,451±0,02 1,2,3	66,74±4,5	
2 месяца п/о	Неблагоприятное 1гр	0,432±0,021,2	82,2±6,1 1,2	18,5%
	Благоприятное 2гр	0,198±0,021,2,3	55,15±2,1	

1 – различия достоверны по отношению к контролю (p<0,001);

2 – различия достоверны по отношению к периоду «до лечения» (p<0,01);

3 – различия достоверны между группами с разным течением послеоперационного периода (p<0,01)

Таблица 2. Динамика эндогенных ингибиторов в ликворе больных злокачественной глиомой при ЛИХТ-2

Сроки	Качество течения п/о периода	$\alpha$ -2М мг/л	$\alpha$ -1ПИ г/л	% летальности
Контроль (условная норма)		0,06±0,001	59,08±2,3	
До лечения ЛИХТ-2		0,541±0,03 1	104,5±7,6 1	
7 сутки п/о	Неблагоприятное 3 гр.	0,234±0,01 1,2	131,1±6,32	
	Благоприятное 4 гр.	0,383±0,02 1,2,3	82,2±6,1 1,2,3	
1 месяц п/о	Неблагоприятное 3 гр.	0,204±0,02 1,2	102,8±8,5 1,2	
	Благоприятное 4 гр.	0,361±0,02 1,2,3	137,0±8,4 1,2,3	
2 месяца п/о	Неблагоприятное 3 гр.	0,267±0,02 1,2	47,95±3,4 1,2	Нет
	Благоприятное 4 гр.	0,171±0,01 1,2,3	54,80±5,2 1,2	

1 – различия достоверны по отношению к контролю (p<0,001);

2 – различия достоверны по отношению к периоду «до лечения» (p<0,01);

3 – различия достоверны между группами с разным течением послеоперационного периода (p<0,01)

ходимость дробного местного введения химиопрепаратов, начиная с интраоперационного введения, и обосновывает применяемую длительность локальной химиотерапии.

Исследования динамики эндогенных ингибиторов при развившейся злокачественной глиоме головного мозга и различных подходах к её терапии дают материал для понимания нарушений, происходящих при канцерогенезе в ткани мозга, а также для разработки и совершенствования перспективных способов воздействия на них.

## Выводы

Умеренная активация  $\alpha$ -2М и нормализация  $\alpha$ -1ПИ при лечении злокачественных глиом улучшают эндогенную защиту при обоих видах терапии, но ЛИХТ-2 оказалась более успешной, поскольку все больные выжили.

Продолжительность реактивных процессов после удаления злокачественной глиомы головного мозга составляет не менее трёх месяцев и в случае неблагоприятного течения послеоперационного периода может сопровождаться, как увеличением, так и истощением эндогенного  $\alpha$ -1ПИ.

## Литература

- Holten-Andersen Mads Nikolaj, Christensen Ib Jarle, Brünnner Nils, Nielsen Hans Jørgen. 2008. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase type-1 (TIMP-1) as a cancer and postoperative marker for minimal residual disease or recurrent disease in patients with a prior history of cancer: Пат. 7374886 США, МПК7 G01N 33/53. Rigshospitalet; Hvidovre Hospital, № 10/117030. Опубликовано 20.05.2008; НПК 435/7.1.
- Зорина В.Н., Козлов И.Г., Третьякова Т.В., Промзелева Н.В., Баженова Л.Г., Зорина Р.М., Рябичева Т.Г., Зорин Н.А. 2009. Некоторые реактанты острой фазы при различных типах пролиферативных заболеваний придатков матки. Клиническая лабораторная диагностика. 10, 16–19.
- Kotlowski R., Bernstein C. N., Silverberg M. S. et al. 2008. Population-based case-control study of alpha-1-antitrypsin and SLC11A1 in Crohn's disease and ulcerative colitis. Inflamm. Bowel. Dis. 14, 1112–1117.
- Оглоблина О. Г., Арефьева Т. И. 1994. Роль протеолитических ферментов и их ингибиторов в инвазии злокачественных опухолей (обзор литературы). Биохимия. 59, 340–352.