

УДК 616.24–76.29.49:76.03.31

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ЯК МАРКЕРИ РЕАБІЛІТАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЖІНОК, ПРООПЕРОВАНИХ З ПРИВОДУ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Т. Ю. Лихолат¹, О. А. Лихолат², Г. О. Хижняк, Г. І. Григор'єва³,
Л. В. Зеркаль³

¹Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

²Академія митної служби України, м. Дніпропетровськ

³ДУ «Український державний НДІ медико-соціальних проблем інвалідності МОЗ України», м. Дніпропетровськ

Резюме

Выделены биохимические показатели сыворотки крови, которые могут служить маркерами реабилитационного потенциала женщин, прооперированных вследствие рака молочной железы. Исследование указанных показателей, вовлеченных в процессы пролиферации и метастазирования, позволит уточнить диагноз и прогноз заболевания, повлияет на выбор тактики построения реабилитационных программ больных, прооперированных по поводу онкопатологии, с учетом возрастных состояний.

Ключевые слова: рак молочной железы, биохимические показатели, реабилитационный потенциал.

Summary

Biochemical parameters of blood serum can serve as markers of rehabilitation potential of operated on for breast cancer have been marked. The study of the parameters involved in the proliferation and metastasis, will clarify the diagnosis and prognosis of the disease, choice tactics building of rehabilitation programs of patients operated on for cancer pathology age-appropriate conditions.

Key words: breast cancer, biochemical indexes, rehabilitation potential.

Вступ. Проблема захворюваності та лікування злоякісних новоутворень молочної залози, а також інвалідизації населення внаслідок цього захворювання продовжує заслуговувати серйозної уваги, оскільки кількість таких хворих збільшується, а результати лікування та медико-соціальної реабілітації не можуть бути визнані достатньо задовільними. Рак молочної залози (РМЗ) посідає провідне місце в структурі онкологічної захворюваності жіночого населення більшості економічно розвинених країн світу. Це обумовлює актуальність і важливість пошуку та розробки нових методів протипухлинного лікування. Протягом останнього часу у всьому світі спостерігається підвищення захворюваності і смертності від РМЗ. Щорічно у світі реєструється більше 1 млн. нових випадків РМЗ. Особливо високі показники захворюваності відзначені у США, Канаді, Франції, Ізраїлі, Швейцарії, Прибалтійських країнах. Найнижчі – у Японії, середньоазійських і африканських країнах. Кожна 28-ма жінка у США вмирає від РМЗ, а кожна 8-ма – ризикує захворіти. У країнах СНД щорічно реєструються 510000 випадків РМЗ. Смертність жінок від РМЗ за останні 10 років зросла більш ніж у 2,5 рази і посіла перше місце [1]. В Україні інтенсивність росту захворюваності на рак молочної залози за останні 10 років збільшилася у 2 рази і набуває значного росту порівняно із захворюваннями на інші форми злоякісних новоутворень. Рак молочної залози є основною причиною смертності від онкологічних захворювань у жінок, призводить до важкої інвалі-

дності і породжує велику кількість медико-соціальних проблем [2]. Перш за все, це втрата працездатності, а також важкий морально-психологічний стрес та його наслідки, які істотно змінюють всі сфери життя жінки. Згідно з прогнозними оцінками до 2020 р. рівень захворюваності на РМЗ жіночого населення в Україні збереже тенденцію до зростання [3].

Головна роль у розвитку раку молочної залози відводиться порушенню гормонального балансу в організмі жінки. На тлі порушення нейрогормональної регуляції, що супроводжується в кінцевому підсумку підвищенням рівня естрогенів, у молочної залозі виникає дисгормональна гіперплазія з проліферацією епітелію протоків. Адекватна оцінка ступеня поширеності пухлинного процесу, прогнозу перебігу захворювання є одним із шляхів підвищення ефективності лікування РМЗ. Суттєве прогностичне значення мають біологічні фактори, що дозволяють прогнозувати відповідь на лікування. До біологічних факторів належать вік або стан репродуктивної функції, кількість уражених регіонарних лімфовузлів, стан рецепторів естрогенів та прогестерону, частка проліферуючих ракових клітин і експресія HER 2/neu. На стадіях I, II, IIIA біологічні фактори дають іноді точнішу прогностичну інформацію, ніж розміри пухлини.

Потрапляння пухлинних клітин унаслідок хірургічного втручання у циркулюючу кров вважається одним з найважливіших факторів, здатних погіршити результати лікування РМЗ та потребує

застосування методів знищення гематогенних мікрометастазів. Теорія «мінімальної післяопераційної залишкової хвороби» свідчить про збереження в організмі хворих злоякісних клітин (після видалення основної пухлини), які не визначаються клінічними та інструментальними методами і можуть бути причиною подальшого утворення метастазів.

Загальновідомо, що розвиток злоякісної пухлини – процес мультифакторний, пов'язаний з порушенням або перебудовою здебільшого внутрішньоклітинних механізмів. Протягом останніх років відкрито значну кількість рецепторів, ферментів, структурних білків, які повноправно можуть вважатися маркерами РМЖ. Для одних доведена важлива роль у патогенезі пухлини, для інших висока органоспецифічність. У багатьох сучасних публікаціях показана діагностична та прогностична ефективність того чи іншого маркера. Проте жоден з них до цих пір не використовується в широкій клінічній практиці, що пояснюється відсутністю комплексного підходу до лабораторної діагностики раку. У зв'язку з цим уявити перебіг процесу лише по одному маркеру практично неможливо. Пріоритетним завданням у даний час є створення набору з доступних маркерів, здатного досить докладно дати характеристику пухлини [4–6].

Метою даної роботи стало визначення біохімічних показників сироватки крові жінок, які були прооперовані з приводу раку молочної залози, для встановлення прогностичних критеріїв перебігу реабілітаційного процесу.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження була сироватка крові пацієнтів, яким проведено оперативне втручання з приводу онкологічних захворювань молочної залози.

Захворюваність на РМЖ має два піки: перший припадає на вікову групу 40–45 років, другий – після 50–55 років. Пацієнти були поділені на дві групи. Першу групу склали жінки, віком 40–50 років ($n = 15$), другу – старші 50 років ($n = 22$). Контролем слугувати біохімічні показники здорових жінок віком 25–50 років ($n = 25$).

Визначали стан протеолітичних процесів за активністю трипсину та його облігатних інгібіторів – $\alpha 1$ -антитрипсину та $\alpha 2$ -макроглобуліну [7], катепсинів В і L [8], показники ендогенної інтоксикації за концентрацією молекул середньої маси (МСМ) [9], процесів перекисного окиснення ліпідів за вмістом ТБК-активних продуктів [10].

Статистичну обробку здійснювали за допомогою ПЕОМ з використанням програми Statistic 6.0. Для оцінки вірогідності отриманих змін використовували t -критерій Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Інвазія і метастазування раку є результатом низки взаємозалежних процесів, важливу роль у регуляції яких відіграють протеолітичні ферменти [11, 12]. У процесі канцерогенезу малігнізовані клітини виробляють ряд протеаз, що руйнують клітинні мембрани і позаклітинний матрикс, сприяючи тим самим проникненню ракових клітин у навколишні тканини.

Протеолітичні ферменти, що залучені до пухлинної прогресії та метастазування, належать до чотирьох основних типів протеаз: матриксні металлопротеїнази, серинові протеази, цистеїнові та аспартагні протеази [13]. Також важливе значення мають інгібітори матриксних протеїназ, які визначають інвазивні властивості пухлини.

Катепсин В, що входить до сімейства цистеїнових протеїназ, як й інші протеази, бере участь у інвазивних процесах, які супроводжують пухлинну прогресію: розщеплює білки міжклітинного матриксу здорових тканин і активує інші протеази протеолітичного каскаду, що призводить до деградації міжклітинної взаємодії. Він активує урокиназу і коллагеназу, які викликають лізис ендотеліального матриксу, що підвищує здатність ендотеліальних клітин до міграції, а пухлинних клітин до інвазії та метастазування. Поряд із залученістю в прогресію злоякісних пухлин катепсину В, цистеїновий катепсин L є медіатором лізосомального шляху клітинної загибелі.

Різні сигнали клітинної загибелі, такі як, наприклад, активація специфічних рецепторів, активація р53, окиснювальний стрес, можуть індукувати часткову проникність лізосомальних мембран і вивільнення катепсинів у цитозоль [14].

Визначали особливості активності катепсинів В та L у сироватці крові жінок, які були прооперовані з приводу раку молочної залози. Встановлено, що у жінок у менопаузі активність катепсину В перевищує контрольні показники в 1,7 разу, постменопаузі – 1.4 разу. Дослідження активності катепсину L показало дискретність змін вивчаючого показника в залежності від віку пацієнтів: так, у I групі не знайдено вірогідних відхилень від контрольних індексів, у хворих старшого віку активність катепсину складає лише 48 % від показників здорових осіб (табл. 1).

З точки зору біології злоякісного росту однією з необхідних умов метастазування є руйнування екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), що забезпечує по'єднання клітин між собою. Такого роду деструкція здійснюється активними сериновими протеїназами [13, 15]. До їх числа відноситься трипсин, що продукується у формі зимогена (трипсиногену) підшлунковою залозою. Його активація відбувається під впливом ентерокинази, присутньої в секреті дванадцятипалої кишки. Після цього фермент отримує здатність взаємодіяти зі своїм специфічним PAR-2 рецептором (активується протеїназою рецептор-2-Protease-activated receptor-2) [16]. У нормі він експресується на ендотеліальних і гладком'язових клітинах судин і дихальних шляхів, епітеліоцитах шлунково-кишкового тракту, легенів і ниркових каналців, лейкоцитах, мастоцитах, кератиноцитах, легневих фібробластах і первинних аферентних нейронах. У присутності ентерокинази відбувається підвищення синтезу трипсиногену, який після активації ентерокиназою може взаємодіяти з PAR-2 рецепторами і піддавати дезінтеграції ЕЦМ, що сприяє поділу клітинного моношару та міграції клітин [17].

Біохімічні показники сироватки крові хворих на рак молочної залози, M + m

Показник	Контроль	I група	II група
Катепсин В, ум.од	2,5 ± 0,09	4,2 ± 0,08 ¹	3,5 ± 0,12 ^{1,2}
Катепсин L, умод	5,2 ± 0,21	5,4 ± 0,15	2,5 ± 0,20 ^{1,2}
Трипсин, нмоль/с * л	36,5 ± 3,2	45,9 ± 1,18 ¹	40,2 ± 2,73 ^{1,2}
α1- АТ, ммоль/с * л	8,96±0,54	6,23 ± 0,17 ¹	7,87 ± 0,30 ^{1,2}
α2-МГ, ммоль/с * л	1,27±0,11	1,60 ± 0,04 ¹	1,52 ± 0,03 ¹
МСМ, ум.од.	255 ± 18,1	353 ± 16,6 ¹	434 ± 27,3 ^{1,2}
ТБК-активні продукти, нмоль/л	1,29 ± 0,003	3,19 ± 0,18 ¹	3,46 ± 0,26 ¹

Примітка: 1 – вірогідність змін показників дослідних груп у порівнянні з контрольними показниками; p < 0,05

2 – вірогідність змін показників між дослідними групами, p < 0,05

Дослідження сироватки крові жінок, прооперованих з приводу раку молочної залози, показало, що у осіб віком 40–50 років активність трипсину на 26 % перевищує показники контрольної групи, у пацієнтів, старших 50 років, спостерігається тенденція до активації трипсину. Визначення активності облігатних інгібіторів трипсину дозволило встановити зниження активності α1-антитрипсину, що зв'язує майже 90 % активності ензиму, на 31 % (I група) і 13 % (II група). Активність та α2-макроглобуліну перевищувала контрольні параметри на 26 % та 20 %, відповідно.

Метаболічний статус організму онкологічних хворих характеризується переважанням катаболічних реакцій, що виражається зниженням вмісту загального білка, збільшенням концентрації маломолекулового діальдегіду, дієнових кон'югатів, виникає дисбаланс між оксидантною та антиоксидантною системами [18, 19].

У нашому досліді вміст ТБК-активних продуктів, що є маркерами процесів перекисного окиснення ліпідів, у жінок у менопаузі зростає майже у 2,5 разу, у постменопаузі – 2,7 разу (табл. 1).

Молекули середньої маси, будучи продуктами розпаду білків, діють як вторинні ендотоксини, викликаючи розлади різних фізіологічних процесів. Вони здатні формувати міцні комплекси з транспортними системами крові, роблячи їх функціонально інертними. У таких умовах відбувається конформаційна модифікація транспортних компонентів у крові (альбуміну, еритроцитів) [20]. Як показали дослідження, у прооперованих онкохворих спостерігається значна ендотоксикація: концентрація молекул середньої маси у сироватці пацієнтів I групи перевищує показники здорових осіб на 38 %, II групи – на 70 %.

Таким чином, проведені дослідження довели, що у жінок, прооперованих з приводу раку молочної залози, у сироватці крові посилені протеолітичні процеси, а саме, спостерігається активація трипсину, катепсинів В та L на тлі зниження активності облігатних інгібіторів трипсину. В той же час, ступінь інтенсифікації протеолізу вищий у жінок у віці 40–50 років у порівнянні з показниками жінок старшого віку. Оскільки з віком відбувається зниження

швидкості метаболізму, феномен, що спостерігається, є механізмом гальмування проліферативного росту пухлин у жінок у постменопаузі, що може бути ознакою більш високого реабілітаційного потенціалу.

Ступінь накопичення ТБК-активних продуктів як показників активності процесів перекисного окиснення ліпідів вищий у сироватці жінок II групи, що може бути наслідком, по-перше, змін в організмі жінок, викликаних патологічним станом, по-друге, віковими процесами, оскільки вільно радикальні процеси тепер розглядаються як один з механізмів старіння.

Ступінь накопичення показників ендогенної інтоксикації в сироватці крові також вищий у жінок старшої вікової групи, що може бути результатом виснаження систем детоксикації організму у даного контингенту хворих, посилення катаболічних процесів, а також сумацією афектів можливих супутніх вікових патологій.

Висновки

Дослідження діагностичної та прогностичної значущості показників протеолітичних процесів (активності трипсину та його облігатних інгібіторів, цистеїнових катепсинів), процесів перекисного окиснення ліпідів (зокрема, вмісту ТБК-активних продуктів), ступеню ендогенної інтоксикації (накопичення молекул середньої маси) показали, що зазначені індекси в сироватці крові у жінок, прооперованих з приводу раку молочної залози, можуть використовуватися для оцінки реабілітаційного потенціалу як незалежні маркери безрецидивної і загальної тривалості життя хворих після лікування.

Водночас, при детермінації стану необхідно враховувати вікові зміни біохімічного гомеостазу пацієнтів. Тому, на нашу думку, більш об'єктивною є верифікація балансу досліджуваних систем: показники протеолізу – антипротеолізу, оксидантної – антиоксидантної систем.

Дослідження зазначених показників сироватки крові, що є маркерами інтенсивності механізмів, залучених у процеси проліферації та метастазування, дозволить уточнити діагноз та прогноз захворювання, вплинути на вибір тактики побудови реабілітаційних програм хворих, прооперованих з приводу онкопатології, з урахуванням вікових станів.

Література

1. Смоланка І.І. Сучасний погляд на проблему діагностики і лікування раку молочної залози / І.І. Смоланка, С.Ю. Скляр // Жіночий лікар. – 2008. – № 5. – С. 8.
2. Андрианов О. В. Социально-гигиенические аспекты инвалидности и медико-социальной реабилитации инвалидов вследствие злокачественных образований молочной железы: автореф. канд. мед. наук. – М.:ФГУ ФБМСЭ, 2007. – 34 с.
3. Федоренко З. П. Особенности трендовых моделей заболеваемости раком грудной железы в Украине после аварии на ЧАЭС / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, А. Ю. Рыжов, Е. Л. Горох, Е. В. Сумкина, Л. Б. Куценко // Клин. онкология. – 2012. – № 5 (1). – С. 11–16.
4. Аляев Ю. Г. Молекулярная патология рака предстательной железы: диагностическая и прогностическая значимость основных маркеров / Ю. Г. Аляев, Е. А. Безруков, П. А. Шестиперов // Онкоурология. – 2006. – № 2. – С. 45–50.
5. Morgia G. Matrix metalloproteinases as diagnostic (MMP-13) and prognostic (MMP-2, MMP-9) markers of prostate cancer / G. Morgia, M. Falsaperla, G. Malaponte, M. Madonia et al. // Urol.Res. – 2010. – Vol. 33. № 1. – P. 44–50.
6. Semaan M. Prognostic value of stromal immunohistochemistry by MMP-2, MT1-MMP and TIMP-2 in clinically localized prostate cancer / M. Semaan, N. Jovenin., P. Birembaut, J. Menard, F. Staerman // Prog. Urol. – 2005. – Vol. 15. № 2. – P. 250–254.
7. Карягина И. Ю. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α1-антитрипсина и α2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И. Ю. Карягина, Р. А. Зарембский, М. Д. Балябина // Лабораторное дело. – 1990. – № 2. – С. 10–13.
8. Березин В. А. Очистка и некоторые свойства тиактируемого катепсина из больших полушарий головного мозга и мозжечка быка / В. А. Березин, В. И. Черная, А. Д. Рева, О. В. Смагина // Украинский биохимический журнал. – 1982. – № 3. – С. 249–253.
9. Методи дослідження ендогенної інтоксикації: методичні рекомендації. – К.:УЦНМПЛІ, 1998. – 27 с.
10. Коробейникова Э. Н. Модификация метода определения ТБК-активных продуктов // Лаб.дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
11. Claek R.L. Systemic cancer and the metastatic process // Cancer. – 1979. – Vol. 43, № 3. – P. 790 – 797.
12. MacFarlane S. R. Proteinase-activated receptors / S. R. MacFarlane, M. J. Seatter, T. Kanke, G. D. Hunter, R. Plevin // Pharmacol. Rev. – 2001. – Vol. 53. – P. 245–282.
13. Koshikawa N. Multiple secretion of matrix serine proteinases by human gastric carcinoma cell lines / N. Koshikawa, H. Yasumitsu, M. Umeda, K. Miyazaki // Cancer Res. – 1992. – Vol. 52. – P. 5046 – 5053.
14. O'Brien P.J. Protease activated receptors: theme and variations / P. J. O'Brien, M. Molino, M. Kahn, L. F. Brass // Oncogene. – 2001. – Vol. 20. – P. 1570–1581.
15. Hirahara F. Trypsinogen expression in human ovarian carcinomas / F. Hirahara, Y. Miyagi, E. Miyagi, H. Yasumitsu, N. Koshikawa et al. // Int. J. Cancer. – 1995. – Vol. 63. – P. 176–181.
16. Uchima Y. Identification of a trypsinogen activity stimulating factor produced by pancreatic cancer cells: its role in tumor invasion and metastasis / Y. Uchima, T. Sawada, T. Nishihara, T. Umekawa, M. Ohira et al. // Int. J. Mol. Med. – 2003. – Vol. 12, № 6. – P. 871–878.
17. Лукашенко П. В. Экспрессия активируемого протеиназой рецептора-2 (PAR-2), синтез трипсина и энтерокиназы клеточными линиями нейробластомы под влиянием вируса цитомегалии / П. В. Лукашенко, И. И. Саванович, В. Н. Калонов // Медицинский журнал – 2012. – № 2. – С. 45–53.
18. Pejic S. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in endometrium of patients with polyps, myoma, hyperplasia and adenocarcinoma / S. Pejic et al. // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2009. – Vol. 7. – P. 149.
19. Белоногов Р. Н. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови больных раком легкого / Р. Н. Белоногов и соавт. // Сибирск. онкол. журнал. – 2009. – № 4. – С. 48 – 51.
20. Смолякова Р. М. Оценка связывающей способности и транспортной функции сывороточного альбумина у больных раком легкого / Р. М. Смолякова и соавт. // Новости хирургии. – 2005. – Т. 13., № 1 – С. 78–84.

