

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БЕЛКА P53, ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА СОСУДОВ (VEGF) ПРИ ПОЛИПОЗНОМ РИНОСИНУСИТЕ

Джаббаров К.Д., Аvezов М.И., Рузметов У.У.

Кафедра оториноларингологии

Ташкентский институт усовершенствования врачей

Ташкент, Узбекистан

Резюме: Частота полипозный риносинусит (ПРС) имеет четкую тенденцию к росту, удельный вес в структуре заболеваемости ЛОР-органов составляет 5-20%.

Поиск новых подходов к ранней диагностике и своевременному медикаментозному лечению полипозного риносинусита является актуальным не только из-за частого рецидивирования заболевания, но и из-за большой распространенности этого заболевания.

DIAGNOSTIC VALUE OF P53 PROTEIN, EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN POLYPOID RHINOSINUSITIS

Djabbarov K.D., Avezov M.I., Ruzmetov U.U.

Department of Otorhinolaryngology

Tashkent Institute of Advanced Medical

Tashkent, Uzbekistan

Resume: Frequency of polyposis rhinosinusitis (PRS) has an accurate tendency of growth, specific gravity in the structure of a case rate of ENT organs makes 5-20%.

Search of new approaches to early diagnosis and well-timed medicamental treatment of PRS is actual not only by his frequent relapsing, but also because a big prevalence of this disease.

Частота ПРС имеет четкую тенденцию к росту, удельный вес в структуре заболеваемости ЛОР-органов составляет 5-20% [1]. По наблюдениям А.С. Лопатина полипы в полости носа встречаются у 1,02% людей, причем это касается только клинически манифестировавших форм заболевания, реальная распространенность ПРС с учетом субклинических форм значительно выше [2].

В соответствии с нормативным документом ЕР³OS, принятом в 2012 г., ПРС – хроническое заболевание полости носа и околоносовых пазух, характеризующееся двумя или более обязательно присутствующими симптомами: блокада (обструкция) носового дыхания и насморк (ринорея), и сопутствующими симптомами (боль или ощущение напряжения в области лба и носа, потеря и снижение обоняния), продолжающимися более 12 нед. [3]. По данным ЕР³OS около 1% населения земли страдают полипозным риносинуситом [3].

Белок p53 – это транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл. p53

выполняет функцию супрессора образования злокачественных опухолей, соответственно является онкомаркером и экспрессируется во всех клетках организма.

При отсутствии повреждений генетического аппарата белок p53 находится в неактивном состоянии, а при появлении повреждений ДНК активируется. Одним из стимулов активации p53 является гипоксия, которая неизбежна при длительном течении ПРС. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК; при сильном стрессовом сигнале – запуск апоптоза.

Одним из маркеров нарушения биологических процессов на клеточном уровне является VEGF.

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, эндотелиальный фактор роста сосудов) - один из членов семейства структурно близких между собой белков, которые являются лигандами для семейства рецепторов VEGF. VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и выживание незрелых кровенос-

ных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) и активируя их. Эти рецепторы экспрессируются клетками эндотелия стенки кровеносных сосудов [4]. Связывание VEGF с этими рецепторами запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию [4, 5].

Эндотелиальные клетки участвуют в таких разнообразных процессах, как вазоконстрикция и вазодилатация, презентация антигенов, а также служат очень важными элементами всех кровеносных сосудов - как капилляров, так и вен или артерий. Таким образом, стимулируя эндотелиальные клетки, VEGF играет центральную роль в процессе ангиогенеза. VEGF стимулирует проницаемость мелких кровеносных сосудов. Повышенная проницаемость ведет к “подтеканию” белков плазмы через стенку сосуда и формированию экстравазального фибринового геля. Этот гель представляет собой подходящую среду для роста клеток эндотелия [4].

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) – относится к группе факторов роста и является полипептидом, он устойчив к действию кислот и высоких температур. Относится к наиболее стабильным из всех изученных белков. Присутствует в клетках всех тканей организма, регулирует рост клеток [6].

ЭФР играет важную роль в регуляции обменных и восстановительных процессов. Специфически связывается с рецепторами на поверхности клеточных мембран, стимулирует таксис противовоспалительных клеток.

В нормальных условиях содержание факторов роста в организме человека относительно невелико и стабильно. Но при каких-либо повреждениях, возрастает количество рецепторов, чувствительных к ЭФР, благодаря этому повышается его концентрация [6, 7].

Поиск новых подходов к ранней диагностике и своевременному медикаментозному лечению ПРС является актуальным не только из-за частого рецидивирования заболевания, но и из-за большой распространенности этого заболевания.

Проанализировав вышесказанное, нами была поставлена цель исследования – оценить наличие или отсутствие динамики

показателей концентрации белка p53, VEGF-A и VEGFR-2 и ЭФР в полипозной ткани и плазме крови до и после хирургического удаления полипозной ткани при ПРС.

Материал и методы:

В ЛОР-клинике Ташкентского института усовершенствования врачей за период 2010–2013 гг. обследовано 122 больных ПРС в возрасте 27 – 34 лет, средний возраст $29,1 \pm 0,7$. Среди пациентов женщин было 47 (38,5%), мужчин – 75 (61,5%).

Диагноз ПРС ставили по общепринятым критериям на основании жалоб, анамнеза, данных передней, задней риноскопии, рентгенографии и компьютерной томографии ОНП. Определяли общее состояние больных, наличие сопутствующих соматических заболеваний.

Все больные были разделены на 4 группы в зависимости от длительности течения ПРС:

I группа – 30 больных с длительностью ПРС до 3 лет;

II группа – 31 больной с длительностью ПРС 3-6 лет;

III группа – 29 больных с длительностью ПРС 6-10 лет;

IV группа – 32 больных с длительностью ПРС 10-15 лет.

Контрольную группу составили 26 практически здоровых людей сопоставимой возрастной категории, не имеющих вредных привычек и полипозных заболеваний в анамнезе.

Также больные были разделены на 3 группы по степени обтурации полости носа полипозной тканью:

A группа – 1/3 просвета полости носа;

B группа – 2/3 просвета полости носа;

B группа – полная обтурация просвета полости носа.

Образцы полипозной ткани были взяты во время операции и немедленно отправлены на иммуноферментный анализ. Концентрацию показателей выражали в расчете на 1 мг общего белка, определенного по методу Лоури. Исследуемые показатели в лизатах оценивали с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа в соответствии с инструкциями производителей. Показатели измеряли на автоматическом универсальном ридере для микропланшетов ELX800.

При сравнении показателей использовали t-критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни,

Таблица 1. Концентрация p 53, VEGF, ЭФР в плазме крови и полипозной ткани

В крови					В полипозной ткани						
p53	VEGF	VEGFR-2	ЭФР	p53	VEGF	VEGFR-2	ЭФР	p53	VEGF	VEGFR-2	ЭФР
0,68±0,01	133,5±0,949	8,17±0,036	123,3±0,646	--	--	--	--	--	--	--	--
1,03±0,02*	169,5±1,84*	10,9±0,16*	168,7±1,271*	2,34±0,02*	45,54±0,9*	1339,7±28,67*	486,2±8,46*				
0,92±0,01*^	157,3±1,44*^	10,2±0,1*^	156,4±0,992*^	--	--	--	--	--	--	--	--
0,72±0,01*^	142,5±1,34*	8,7±0,1*	149,3±0,763*^	--	--	--	--	--	--	--	--
1,26±0,02*	176,2±1,91*	11,4±0,2*	170,4±1,376*	2,71±0,02*	49,42±0,9*	1342,4±25,57*	488,2±8,68*				
1,12±0,01*^	188,0±1,5*^	9,7±0,1*^	158,6±1,024*^	--	--	--	--	--	--	--	--
0,84±0,02^	151,3±1,84*	8,9±0,1*	151,2±0,859*^	--	--	--	--	--	--	--	--
1,48±0,02*	187,7±1,86*	11,8±0,2*	178,3±1,321*	2,95±0,02*	54,17±0,9*	1348,7±27,75*	491,3±8,56*				
1,29±0,01*^	171,3±1,47*^	9,97±0,1*^	162,2±1,07*^	--	--	--	--	--	--	--	--
1,08±0,01*^	164,2±1,47*	9,2±0,1^	156,7±1,129*^	--	--	--	--	--	--	--	--
1,96±0,02*	193,8±1,89*	11,8±0,16*	183,4±1,45*	3,18±0,02*	60,64±0,9*	1352,5±26,61*	498,4±8,32*				
1,81±0,01^	185,7±1,33^	10,18±0,11^	172,8±1,01^	--	--	--	--	--	--	--	--
1,38±0,01^	168,5±1,54*^	9,3±0,1*	161,7±1,589*	--	--	--	--	--	--	--	--

*-P<0,05 к контролю; ^- P<0,05 к данным до лечения.

Таблица 2. Концентрация p 53, VEGF, ЭФР в плазме крови и полипозной ткани

Группы	В крови					В полипозной ткани				
	VEGF	VEGFR-2	ЭФР	p53	VEGF	VEGFR-2	ЭФР	VEGF	VEGFR-2	ЭФР
Контрольная группа (n=26)	0,68±0,01	133,5±0,949	8,17±0,036	123,3±0,646	--	--	--	--	--	--
А группа, (n=21)	До лечения	1,14±0,01*	159,5±1,84*	11,7±0,2*	147,8±0,721*	2,37±0,03*	49,42±0,9*	1342,4±25,57*	481,3±7,98*	
	1 неделя после лечения	1,02±0,02*^	147,3±1,44*^	9,2±0,1*^	141,4±0,971*^	--	--	--	--	--
Б группа, (n=44)	До лечения	0,87±0,03*	135,2±1,34*	8,2±0,1*	134,1±0,637*^	--	--	--	--	--
	1 неделя после лечения	1,41±0,02^	178,0±1,5*^	9,07±0,1*^	149,8±0,624*^	--	--	--	--	--
В группа, (n=57)	До лечения	1,24±0,03^	147,3±1,84*	8,4±0,1^	139,3±0,935*^	--	--	--	--	--
	1 неделя после лечения	1,67±0,03*	174,3±1,47*^	10,18±0,11^	162,6±1,718^	--	--	--	--	--
Группа, (n=57)	До лечения	1,83±0,02*	187,7±1,86*	11,8±0,16*	167,5±0,967*	3,06±0,03*	60,64±0,9*	1352,5±26,61*	496,8±9,62*	
	4 недели после лечения	1,38±0,02^	161,2±1,47*	9,3±0,1*	154,2±1,873*	--	--	--	--	--

* - P<0,05 к контролю; ^ - P<0,05 к данным до лечения

медианный тест, корреляционный тест Пирсона (r) и тест корреляции рангов Спирмена (R). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программных пакетов «Statistica 6.0» (StatSoft Inc.) и «R-2.15.0 for Windows» (R-project).

Концентрация p53 в полипозной ткани при ПРС повышается с увеличением длительности ПРС. Такая же тенденция отмечалась и при исследовании содержания p53 в сыворотке крови, так при длительности ПРС до 3 лет количество p53 превышало норму в 1,5 раза, а при длительности патологии 10-15 лет в 2,9 раз (таблица 1).

Определение уровня ЭФР выявило достоверное отличие медианных значений этого показателя в плазме крови, при этом медиана уровня ЭФР была в 1,4 раза выше при ПРС по сравнению с контрольной группой.

Нами обнаружено, что содержание VEGF в плазме крови выше показателей контрольной группы у 104 (85%) из 122 обследованных больных, при этом среднее значение и медиана этого показателя также достоверно возрастали в полипозной ткани ($p < 0,05$). Выявлено также достоверное увеличение уровня VEGFR-2 ($p < 0,05$) в полипозной ткани. Сравнивая уровни VEGFR-2 в плазме крови по сравнению с контрольной группой, мы обнаружили увеличение его содержания полипе на 3-87% у 82% больных.

Отмечена слабая, но достоверная прямая корреляция между уровнями VEGFR-2 и VEGF в полипозной ткани ($r=0,35$; $p < 0,05$). Определение уровня VEGF выявило достоверное отличие медианных значений этого показателя в плазме крови, при этом медиана уровня VEGF была в 1,5 раза выше при ПРС по сравнению с контрольной группой.

У всех больных количество p53 в плазме крови через 6 месяцев после операции приняло сопоставимое значения с параметрами контрольной группы, уровень p53 в плазме крови нормализовался через 1,5±0,14 месяца в группе А, через 3,4±0,28 месяцев в группе Б, в группе В уровень p53 достигал нормальных величин через 5,8±0,12 месяца. Уровень VEGF и VEGFR-2 в плазме крови нормализовался через 1,1±0,14 месяца в группе А, через 2,8±0,17 месяцев в группе Б, в группе В уровень VEGF и VEGFR-2 достигал нормальных величин через 4,9±0,17

месяца. В свою очередь уровень ЭФР в плазме крови нормализовался через 2,1±0,28 месяца в группе А, через 3,8±0,24 месяцев в группе Б, в группе В уровень ЭФР достигал нормальных величин через 5,2±0,21 месяца.

Результаты исследования в группах А, Б, В приведены в таблице 2.

Выводы:

1. Исследование концентрации белка p53, VEGF и VEGFR-2 и ЭФР в плазме крови у больных ПРС имеет значение в диагностике заболевания и контроля рецидивирования процесса.

2. После хирургического удаления полипозных образований уровни p53, VEGF и VEGFR-2 и ЭФР в сыворотке крови снижаются обратно пропорционально сроку заболевания, нормализуясь за 6 месяцев.

3. Уровень белка p53, VEGF и VEGFR-2 и ЭФР в крови являются значимыми прогностическими маркерами ПРС.

Литература:

1. Волков А.Г., Трофименко С.Л. К проблеме медикаментозного лечения хронического полипозного риносинусита // Вестник оториноларингологии, 2010. №4. с 41-44.
2. Лопатин А.С. Современные теории патогенеза полипозного риносинусита. // Пульмонология. – 2003. – №5. – С. 110-116
3. EP³OS Primary Care Guidelines: European Position Paper on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012 – a summary. Prim Care Respir J 2012; 35: 3: 64–69.
4. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumour angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. J Clin Oncol 2004; 20:4368-80.
5. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis. EXS 2005; 2(94): 29-34.
6. Rotterud R., Nesland J.M., Berner A. Expression of the epidermal growth factor receptor family in normal and malignant urothelium// BJU Int., 2005, Jun;95(9):1344-50.
7. Skladzen J., Obtulowicz K., Miodonski A. et al. Allergic nasal polyps under scanning electron microscope // Med. Sci. Monit. 2001. Vol. 7(3). - P. 477-481.