

УДК 616-006.699- 57.084.1: 577.29

**ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЭРИТРОЦИТАХ И ПЛАЗМЕ КРОВИ В ДИНАМИКЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ (В ЭКСПЕРИМЕНТЕ)****Воронова О.С., Генинг Т.П., Абакумова Т.В., Долгова Д.Р., Генинг С.О.***ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»,**Ульяновск, e-mail: Naum-53@yandex.ru*

Развитие злокачественных опухолей сопровождается значительными изменениями в липидном составе и интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) как в опухоли, так и на уровне организма в целом. В эксперименте на 75 белых беспородных мышках с перевиваемым раком шейки матки (РШМ-5) проведен анализ процессов ПОЛ и активности антиоксидантной системы в эритроцитах и плазме крови. Установлено возрастание у животных с РШМ-5 уровня малонового диальдегида в эритроцитах и плазме крови с увеличением сроков роста опухоли. При этом отмечено повышение уровня супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-редуктазы, глутатион-трансферазы в эритроцитах и разнонаправленная динамика активности этих ферментов в плазме крови. Увеличение уровня ПОЛ на фоне разнонаправленной активности антиоксидантных ферментов может свидетельствовать о нарушении равновесия в системе «перекисное окисление липидов – антиоксиданты».

**Ключевые слова:** рак шейки матки, перекисное окисление липидов, антиоксиданты**PARANEOPLASTIC PROCESSES IN ERYTHROCYTES AND BLOOD PLASMA IN THE PROGRESSION OF CERVICAL CANCER (IN EXPERIMENT)****Voronova O.S., Gening T.P., Abakumova T.V., Dolgova D.R., Gening S.O.***Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: Naum-53@yandex.ru*

Development of malignant tumors is accompanied by considerable changes in lipid structure and intensity of processes of lipid peroxidation (LPO) both in a tumor, and at organism level as a whole. This study traces the processes of lipid peroxidation and activity of antioxidant system in erythrocytes and blood plasma in experiment on 75 white inbred mice with an transplantable cervical cancer (CeCa-5). Increase at animals with CeCa-5 level malondialdehyde in erythrocytes and blood plasma with increase in terms of growth of a tumor is established. Increase of level of superoxide dismutase, catalases, glutation-reductases, glutation-transferazy in erythrocytes and blood plasma with increase in periods of growth of a tumor is set. The increase in level the lipid peroxidation against multidirectional activity of antioxidant enzymes can testify to equilibrium violation in lipid peroxidation – antioxidant system.

**Keywords:** cervical cancer, lipid peroxidation, antioxidant

До настоящего времени остаются неизученными прогностически неблагоприятные системные метаболические сдвиги, сопутствующие развитию рака шейки матки и, в определенной степени, способствующие опухолевой прогрессии, в частности, состояние процессов липопероксидации и антирадикальной защиты клеток [4]. Чрезмерное образование свободных радикалов может быть одним из патогенетических факторов канцерогенеза [10].

Установлено, что развитие злокачественных опухолей сопровождается значительными изменениями в липидном составе и интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) как в опухоли, так и на уровне организма в целом [14]. Антиоксиданты обеспечивают связывание и модификацию свободных радикалов [12], предупреждают образование перекисей или разрушают их. Дисбаланс активности ПОЛ и антиоксидантной системы способствует возникновению оксидативного стресса [12].

В соответствии с вышеизложенным, **целью исследования** явилось изучение уровня ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах и плазме крови мышечей с экспериментальным раком шейки матки.

**Материалы и методы исследования**

Для моделирования РШМ-5 (банк опухолевых штаммов РОНЦ им. Н.Н. Блохина) самкам беспородных мышечей в возрасте 2,5–3 месяцев ( $n = 75$ ) подкожно в область подмышечной впадины перевивали по 0,5 мл взвеси опухолевой ткани на растворе Хенкса (1:9). Для биохимического исследования брали стабилизированную кровь опытных животных на 20-е, 30-е, 40-е и 60-е сутки после трансплантации солидной опухоли РШМ-5. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой по методу Андреевой Л.И. и др. (1988) [1]. Для оценки деятельности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) использовали звено ферментативных антиоксидантов, анализируя активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГТ). Определение активности СОД проводили по методу Дубининой Е.Е. (1989) [7]; активности каталазы, ГТ и ГР оценивали по Карпищенко А.И. (1999) [8].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Stata v.6.0 с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Малоновый диальдегид является одним из показателей активности ПОЛ. Образующиеся в результате действия радикалов кис-

лорода и последующего разрыва полиеновых кислот метаболиты определяют неблагоприятные последствия ПОЛ [6].

Изучение уровня ПОЛ в эритроцитах показало, что у животных с РШМ-5 происходит статистически значимое увеличение содержания МДА с  $219,65 \pm 7,57$  мкмоль/л в контроле до  $295,05 \pm 15,33$  мкмоль/л на 20-е сутки,  $325,94 \pm 14,36$  мкмоль/л на 30-е и  $334,80 \pm 12,98$  мкмоль/л на 40-е сутки после трансплантации опухоли. На 60-е сутки уровень МДА в эритроцитах значительно снижен и составляет  $185,75 \pm 12,97$  мкмоль/л.

СОД – фермент, катализирующий реакции дисмутации активных супероксидных радикалов с образованием перекиси водорода и воды. В современной литературе сведе-

ния об активности этого фермента в эритроцитах онкологических больных достаточно противоречивы: отмечено повышение активности фермента у больных раком ротовой полости [11]. Ряд исследователей сообщает о низкой активности СОД в эритроцитах [4] при метастазировании опухолей.

В результате проведенных исследований нами установлено, что активность СОД в эритроцитах мышей с РШМ-5 в начальной стадии роста (на 20-е сутки после трансплантации опухоли) увеличивается относительно контроля ( $1,84 \pm 0,24$  у.е. против  $1,46 \pm 0,10$  у.е. в контроле). На 30-е сутки развития опухоли уровень СОД соответствует значению контроля; на 40-е сутки достоверно увеличивается, снова снижаясь на 60-е сутки после трансплантации (табл. 1).

**Таблица 1**

Уровень антиоксидантных ферментов в эритроцитах на разные сутки развития РШМ-5

Эксп. группа	Показатель	Каталаза, ммоль/с·л	ГР, ммоль/мин·л	ГТ, ммоль/мин·л	СОД, у.е.
Контроль, $n = 12$		$17,13 \pm 0,64$	$0,43 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,02$	$1,46 \pm 0,10$
20 сутки РШМ-5, $n = 12$		$26,79 \pm 4,31$	$0,63 \pm 0,05^*$	$0,39 \pm 0,06^*$	$1,84 \pm 0,24^*$
30 сутки РШМ-5, $n = 12$		$60,09 \pm 3,02^*$	$0,61 \pm 0,06^*$	$0,56 \pm 0,06^*$	$1,46 \pm 0,14$
40 сутки РШМ-5, $n = 12$		$68,1 \pm 4,01^*$	$1,21 \pm 0,01^*$	$0,64 \pm 0,08^*$	$2,55 \pm 0,13^*$
60 сутки РШМ-5, $n = 12$		$77,6 \pm 4,21^*$	$1,02 \pm 0,04^*$	$0,18 \pm 0,02$	$1,73 \pm 0,19^*$

Примечание. \* –  $p \leq 0,05$ ; данные, статистически значимо отличающиеся от контрольных.

Полученные результаты соответствуют данным ряда исследователей о незначительном увеличении активности фермента в эритроцитах на стадии интенсивного роста опухоли, также соответствуют данным клинических исследований об активности СОД в эритроцитах больных РШМ [2].

Данные об активности каталазы в эритроцитах в динамике канцерогенеза противоречивы. Отмечена повышенная активность каталазы эритроцитов больных РШМ в динамике прогрессирования заболевания [2], при базально-клеточном раке кожи [13]. В то же время ряд исследователей [9] отмечают снижение каталазной активности в эритроцитах при опухолевом процессе либо указывают, что активность каталазы эритроцитов остается стабильной и не зависящей от стадии заболевания, например, при раке молочной железы [4].

Нами установлено, что активность каталазы в эритроцитах мышей с экспериментальным РШМ стабильно возрастает с увеличением сроков роста опухоли, причем на каждой стадии достоверно отличаясь от данных контроля и предшествующих данных (см. табл. 1).

Активность глутатионзависимых ферментов, в частности, ГР, по данным лите-

ратуры, увеличена в эритроцитах и сыворотке крови как у животных с опухолями, так и у онкологических больных, особенно при метастазировании опухолей. Полагают, что результаты определения глутатионредуктазной активности могут иметь большое значение для диагностики опухолей и прогнозирования лечения лейкозов [5]. Есть сведения, что при раке почки [5] в плазме крови и эритроцитах значительных изменений в состоянии глутатионового звена не наблюдается, а у онкологических больных с РШМ в эритроцитах снижена активность ГР [2].

По данным нашего исследования, активность ГТ в эритроцитах интактных мышей составляет  $0,14 \pm 0,02$  ммоль/мин/л. Начиная с 20-х суток после трансплантации, уровень ГТ начинает достоверно увеличиваться до 40-х суток после трансплантации (см. табл. 1). На 60-е сутки – активность фермента снижается до  $0,18 \pm 0,02$  ммоль/мин/л. Это, возможно, объяснимо увеличением конечных продуктов ПОЛ и нарушением функционирования компонентов антиоксидантной системы. Уровень ГР в эритроцитах контрольных и опытных мышей изменяется аналогично уровню ГТ, что может быть связано с по-

вышением содержания глутатиона окисленного (см. табл. 1).

Концентрация МДА в плазме крови, возможно, отражает активность процессов ПОЛ в организме и служит маркером степени эндогенной интоксикации (ЭИ) [3]. У больных РШМ выявлено снижение уровня МДА в плазме крови [2].

Результаты наших исследований уровня МДА в плазме крови мышей в динамике прогрессирования РШМ-5 показали, что интенсивность ПОЛ, оцениваемого по содержанию МДА, статистически значимо возрастает относительно контроля ( $2,95 \pm 0,24$  мкмоль/мин/л) только на 30-е сутки после перевивки опухоли ( $6,23 \pm 0,31$  мкмоль/л), на 20-е сутки она даже немного снижена ( $2,64 \pm 0,30$  мкмоль/л), продолжая увели-

чиваться к 40-м и 60-м суткам ( $7,29 \pm 0,53$  и  $8,46 \pm 1,79$  мкмоль/л, соответственно).

Ферментативная активность ГТ в плазме крови мышей с РШМ-5 достоверно увеличивается с ростом опухоли, достигая  $0,070 \pm 0,006$  ммоль/мин/л на 60-е сутки после трансплантации опухоли (против  $0,016 \pm 0,003$  ммоль/мин/л в контроле). Уровень ГР в плазме крови мышей с РШМ-5 достоверно выше, чем в контроле, на 20-е, 40-е и 60-е сутки после перевивки опухоли, однако, на 30-е сутки наблюдается заметное понижение активности этого фермента (табл. 2). Каталаза в плазме крови меняет свою активность в динамике прогрессирования РШМ-5 на разные сутки развития опухоли, принимая достоверные значения то выше, то ниже контроля (см. табл. 2).

**Таблица 2**

Уровень антиоксидантных ферментов в плазме крови на разные сутки развития РШМ-5

Эксп. группа	Показатель	Каталаза, ммоль/с·л	ГР, ммоль/мин·л	ГТ, ммоль/мин·л
Контроль, $n = 12$		$0,100 \pm 0,019$	$0,014 \pm 0,004$	$0,016 \pm 0,003$
20 сутки РШМ-5, $n = 12$		$0,053 \pm 0,09^*$	$0,040 \pm 0,008^*$	$0,027 \pm 0,003^*$
30 сутки РШМ-5, $n = 12$		$0,211 \pm 0,061^*$	$0,005 \pm 0,001^*$	$0,038 \pm 0,005^*$
40 сутки РШМ-5, $n = 12$		$0,035 \pm 0,005^*$	$0,039 \pm 0,002^*$	$0,043 \pm 0,002^*$
60 сутки РШМ-5, $n = 12$		$0,521 \pm 0,089$	$0,037 \pm 0,003^*$	$0,070 \pm 0,006^*$

Примечание. \* –  $p \leq 0,05$ ; данные, статистически значимо отличающиеся от контрольных

### Заключение

Факт усиления ПОЛ в крови при росте злокачественных новообразований у животных и человека не вызывает сомнений. Основными показателями этого являются различные нарушения ферментативной антиоксидантной защиты тканей, причинами которой могут быть угнетение активности каталазы и нарушение ее синтеза; изменения качественного и количественного состава изоферментов СОД, как правило, снижения активности ГП и уменьшение сродства фермента к субстрату [6].

Результаты исследования свидетельствуют о накоплении МДА в крови животных-опухоленосителей при прогрессировании опухоли. Анализ компонентов АОС в эритроцитах и плазме крови показал, что их активность изменяется разнонаправленно на разных стадиях развития опухоли: в эритроцитах наблюдается статистически значимое повышение антиоксидантной активности (АОА). Изменения активности антиоксидантов в плазме крови в процессе роста опухоли не соответствуют таковым в эритроцитах: уровень каталазы и ГР изменяется волнообразно, в отличие от нарастающей динамики в эритроцитах. Разно-

направленная динамика изменений в АОС может говорить о нарушении равновесия в системе «перекисное окисление липидов-антиоксиданты».

Таким образом, исследование состояния системы ПОЛ-АО в эритроцитах и плазме крови мышей с РШМ-5 показывает, что прогрессирование роста опухоли сопровождается рядом нарушений гомеостаза. Выявлена прямая корреляционная связь между стадией роста опухоли и показателями системы ПОЛ-АО. Считается доказанным, что нарушения механизмов и интенсивность сдвигов активности системы соответствуют характеру течения заболевания [15].

*Работа поддержана грантом Президента РФ и Гос. заданием Министерства образования и науки РФ.*

### Список литературы

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – №11. – С. 41–43.
2. Антонеева И.И. Оксидативный стресс на разных стадиях развития рака шейки матки / И.И. Антонеева, Е.Г. Сидоренко, Т.П. Генинг // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 10 – С. 33–36.
3. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма /

А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина // Методические рекомендации. – СПб., 2000. – 103с.

4. Барсуков В.Ю. Закономерности паранеопластических расстройств при отечно-инфильтративной форме рака молочной железы / В.Ю. Барсуков, В.Н. Плохов, Н.П. Чеснокова // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – №1. – С. 13–19.

5. Герасименко М.Н. Состояние про- и антиоксидантной системы крови при раке почки / М.Н. Герасименко, И.В. Пургина, Р.А. Зуков // Современные проблемы клинической медицины. Онкоурология: материалы всероссийской научно-практической конференции. – 2010. – С. 47–49.

6. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях: лекция // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28–44.

7. Дубинина Е.Е. Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи соврем. биол. – 1989. – Т.108, Вып. 1(4). – С. 3–18.

8. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник: в 2 т. – СПб.: Интермедика, 1999. – С. 27–28.

9. Кудряшова Е.В. Изменение антиоксидантного статуса эритроцитов онкопульмонологических больных / Е.В. Кудряшова, Н.М. Титова // Сб. научных трудов «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии». – Томск, 2004. – Вып. 1. – С. 115 с.

10. Курникова В.В. О роли активации процессов липопероксидации при гиперпластических процессах эндометрия // Успехи современного естествознания. – М., 2003. – №2. – С. 88.

11. Михеевич О.Д. Некоторые особенности процессов перекисного окисления липидов у онкологических больных и возможности их коррекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992. – 29 с.

12. Нагоева М.Х. Активность внутриклеточного антиоксиданта каталазы эритроцитов у больных ангиной // Естествознание и гуманизм: сб. научн. тр.; под ред. проф., д.б.н. Ильинских Н.Н. – 2007. – Т.4., №3. – 147 с.

13. Розенко Л.Я. К вопросу патогенеза развития рецидивов базальноклеточного рака кожи / Л.Я. Розенко, Е.М. Франциянц, Ф.Р. Джабаров и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 3 (39). – С. 14–19.

14. Das U.N. A radical approach to cancer // Med.Sci. Monot. – 2002. – V. 8. №4. – P. 79–92.

15. Ebbehoj E. Comparison between different parameters of cell viability. In vitro studies in a human cervix cancer cell line / E. Ebbehoj, S.T. Langkjer // J. Exp. Clin. Cancer Res. 1995. – V. 14 (1). – P. 95–101.

## References

1. Andreeva L.I. Modifikacija metoda opredelenija perekisej lipidov v teste s tiobarbiturovoj kislotoj / L.I. Andreeva, L.A. Kozhemjakin, A.A. Kishkun // Lab. delo. 1988. no. 11. pp. 41–43.

2. Antoneeva I.I. Oksidativnyj stress na raznyh stadijah razvitiya raka shejki matki / I.I. Antoneeva, E.G. Sidorenko, T.P. Gening // Uspehi sovremennogo estestvoznaniya. 2010. no. 10 pp. 33–36.

3. Arutjunjan A. V. Metody ocenki svobodnoradikal'nogo okislenija i antioksidantnoj sistemy organizma / A. V. Arutjunjan, E. E. Dubinina, N. N. Zybina // Metodicheskie rekomendacii. — Spb., 2000. 103 p.

4. Barsukov V.Ju. Zakonomernosti paraneoplasticheskih rasstrojstv pri otečno-infil'trativnoj forme raka molochnoj zhelezy / V.Ju. Barsukov, V.N. Plohov, N.P. Chesnokova // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2008. no. 1. pp. 13–19.

5. Gerasimenko M.N. Sostojanie pro- i antioksidantnoj sistemy krovi pri rake pochki / M.N. Gerasimenko, I.V. Purgina, R.A. Zukov // Materialy vserosijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Sovremennye problemy klinicheskoj mediciny. Onkourologija». 2010. pp. 47–49.

6. Gorozhanskaja Je.G. Svobodnoradikal'noe okislenie i mehanizmy antioksidantnoj zavity v normal'noj kletke i pri opuholevyh zabojevanijah (lekcija) / Je.G. Gorozhanskaja // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. 2010. no. 6. pp. 28–44.

7. Dubinina E.E. Biologicheskaja rol' superoksidnogo anion-radikala i superoksidisimutazy v tkanjah organizma / E.E. Dubinina // Uspehi sovrem. biol. 1989. T.108, vyp. 1(4). pp. 3–18.

8. Karpiwenko A.I. Medicinskie laboratornye tehnologii i diagnostika: Spravochnik: v 2 t. / A.I. Karpiwenko SPb.: Intermedika, 1999. pp. 27–28.

9. Kudrjashova E.V. Izmenenie antioksidantnogo statusa jeritrocitov onkopul'monologicheskix bol'nyh / E.V. Kudrjashova, N.M. Titova // Sb. nauchnyh trudov «Aktual'nye problemy biologii, mediciny i jekologii». Tomsk, 2004. vyp. 1. 115 p.

10. Kurnikova V.V. O roli aktivacii processov lipoperoksidacii pri giperplasticheskix processah jendometrija // Uspehi sovremennogo estestvoznaniya. Moskva, 2003. no. 2. pp.88.

11. Mihaevich O.D. Nekotorye osobennosti processov perekisnogo okislenija lipidov u onkologicheskix bol'nyh i vozmozhnosti ih korrekcii: Avtocef. dis. . kand. med. nauk / O.D. Mihaevich. M., 1992. 29 p.

12. Nagoeva M.H. Aktivnost' vnutrikletocnogo antioksidanta katalazy jeritrocitov u bol'nyh anginoj / M.H. Nagoeva // Sb.nauchn. tr. «Estestvoznanie i gumanizm» pod red. prof., d.b.n. Il'inskih N.N., 2007. T.4., no. 3. 147 p.

13. Rozenko L.Ja. K voprosu patogeneza razvitiya recidivov bazal'nokletocnogo raka kozhi / L.Ja. Rozenko, E.M. Francijanc, F.R. Dzhabarov i dr. // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2009. no. 3 (39). pp. 14–19.

14. Das U.N. A radical approach to cancer // Med.Sci. Monot. 2002. V. 8. no. 4. pp. 79–92.

15. Ebbehoj E. Comparison between different parameters of cell viability. In vitro studies in a human cervix cancer cell line / E. Ebbehoj, S.T. Langkjer // J. Exp. Clin. Cancer Res. 1995. V. 14 (1). pp. 95–101.

## Рецензенты:

Слесарев С.М., д.б.н., профессор кафедры биологии и биоэкологии ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;

Антонеева И.И., д.м.н., заведующая отделением гинекологии ГУЗ областного клинического онкологического диспансера, врач высшей категории, г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 03.07.2012