

УДК 616.345-006.6-021.3-031.14:612.015

АКТИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ТКАНИ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННОГО РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Франциянц Е.М., Геворкян Ю.А., Комарова Е.Ф., Дашков А.В.,
Малейко М.Л., Никпелова Е.А., Аверкин М.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: rnoi@list.ru

Проведен анализ состояния свободнорадикальных процессов в образцах ткани опухоли толстой кишки и визуально неизмененных участков, отступая 10 см (линия резекции) от края опухолевой ткани при различных вариантах роста опухоли: солитарном, синхронном и метакронном, полученных после гемиколэктомии 90 больных раком толстой кишки (41 женщина и 49 мужчин). В образцах ткани по линии резекции свободнорадикальные процессы при метакронном раке активированы по отношению к соответствующей ткани при солитарном варианте роста опухоли, а при синхронном варианте роста, напротив, репрессированы. В ткани опухоли толстой кишки при одиночном и метакронном вариантах роста свободнорадикальные процессы репрессированы, о чем свидетельствует снижение уровня содержания малонового диальдегида, происходящее на фоне нарушения в работе каскада антиокислительных ферментов, неравномерное снижение уровня витаминов А и Е и повышенный уровень тиолового статуса ткани.

Ключевые слова: солитарный, синхронный, метакронный рак толстой кишки, свободнорадикальные процессы, опухолевая ткань

ACTIVITY OF FREE RADICAL OXIDATION IN TISSUE PRIMARY MULTIPLE COLON CANCER

Frantziyantz E.M., Gevorkyan Y.A., Komarova E.F., Dashkov A.V., Maleyko M.L.,
Nikipelova E.A., Averkin M.A.

Federal State Budget Institution «Rostov Research Oncologic Institute»,
Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, e-mail: rnoi@list.ru

Free radical processes in tissues of colon tumors and visually unchanged areas, retreating 10 cm (line resection) from the edge of the tumor tissue in different types of tumor growth: solitary, synchronous and metachronous received after hemicolectomy 90 colon cancer patients (41 women and 49 men) was analyzed. In tissue samples along free radical resection for metachronous cancer processes are activated in relation to the corresponding tissue in the solitary variant tumor growth, and the growth of the synchronous version, by contrast, were repressed. In colon cancer tissue in single and metachronous variants increase free radical processes repressed, as evidenced by the reduction in the level of malondialdehyde, is happening to the damage in the cascade of antioxidant enzymes, non-uniform reduction of vitamins A and E and increased levels of thiol status of tissue.

Keywords: solitary, synchronous, metachronous colorectal cancer, free radical processes, tumor tissue

В настоящее время большинство исследователей считают активные формы кислорода важнейшими регуляторами клеточных процессов и ключевым элементом изменения программы дифференцировки, пролиферации и апоптоза клеток [2]. Так как развитие опухолевой болезни связано с изменением клеточных программ, очевидна актуальность исследования баланса в системе ПОЛ-антиоксиданты в ткани неоплазмы.

Материалы и методы исследования

Исследовали послеоперационный материал, полученный от 90 больных раком сигмовидного и прямого отделов толстой кишки (41 женщина и 49 мужчин), из них 30 больных солитарным раком (14 мужчин и 16 женщин), 30 больных синхронным (21 мужчина и 9 женщин) и метакронным раком (14 мужчин и 16 женщин). Возраст больных составил от 30 до 87 лет. Гистологическая верификация процесса – умеренно-дифференцированная аденокарцинома (G2 – 66,6% в группе солитарного рака и 74,2% – синхронного и метакронного рака). В ходе оперативных вмешательств производилось удаление аденокарциномы

с последующим биохимическим исследованием образцов ткани опухоли и визуально неизмененных участков кишки, отступая 10 см (линия резекции = интактная ткань) от края опухолевой ткани.

В образцах тканей методом иммуноферментного анализа изучали уровень малонового диальдегида (МДА) (Biomedica Gruppe), активность глутатионпероксидазы (ГПО) (Bio Vendor) и супероксиддисмутазы (СОД) (Саyman Chemica). Также определяли активность каталазы, содержание диеновых конъюгатов – ДК, витаминов Е и А, вычисляли коэффициенты соотношения СОД/ГПО, СОД/каталаза.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica 6.0. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Было исследовано состояние свободнорадикальных процессов в ткани по линии резекции (условно интактной ткани) толстой кишки при различных вариантах роста опухоли (табл. 1, 2, 3). При синхронном

варианте уровень одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА – был снижен относительно соответствующей ткани при солитарном раке в 1,7 раза, а при метахронном, напротив, повышен в 1,4 раза ($p \leq 0,05$). Такая же направленность прослеживалась относительно одного из первичных продуктов ПОЛ – ДК: при синхронном варианте роста опухоли этот показатель был снижен относительно интактной ткани при солитарном раке в 1,2 раза, а при метахронном повышен в 2,4 раза. Аналогичным образом изменялась и активность антиокислительных ферментов. Активность СОД, каталазы и глутатионпероксидазы в интактной ткани при синхронном варианте роста опухоли была снижена по сравнению с ин-

тактной тканью при солитарном раке в 1,3; 1,8 и 1,6 раза соответственно. При метахронном раке в интактной ткани активность СОД, каталазы и глутатионпероксидазы была повышена относительно интактной ткани при одиночном раке на 39; 23 и 35% соответственно. Вместе с тем значение коэффициента СОД/каталаза в интактной ткани при первично-множественном раке было повышено на 13,4%, а СОД/ГПО достоверно не изменялся. Коэффициент соотношения витаминов Е и А при синхронном раке был снижен на 22,7%, а при метахронном, напротив, повышен на 36,4% относительно интактной ткани при одиночной форме роста опухоли толстой кишки ($p \leq 0,05$).

Таблица 1

Некоторые показатели активности ПОЛ в ткани толстой кишки при солитарном варианте роста опухоли

Показатели	Образцы ткани	
	опухоль	интактная
ДК, нМ/г·тк	19,4 ± 1,6 ¹	7,3 ± 0,6
МДА, нМ/г·тк	2,7 ± 0,3 ¹	6,0 ± 0,5
СОД, усл. ед.	127,9 ± 9,6 ¹	90,1 ± 7,2
Каталаза, усл. ед.	1294,7 ± 113,5	1095,8 ± 94,2
ГПО, усл. ед.	3,9 ± 0,3	4,0 ± 0,3
Коэффициент СОД/каталаза ×100	9,9 ± 0,7 ¹	8,2 ± 0,6
Коэффициент СОД/ГПО	32,8 ± 2,5 ¹	22,5 ± 1,8
Витамин А, усл. ед.	1,1 ± 0,2 ¹	1,6 ± 0,2
Витамин Е, усл. ед.	2,8 ± 0,3	3,5 ± 0,4
Коэффициент Е/А	2,5 ± 0,2	2,2 ± 0,2
Сульфгидрильные группы, мкМ/г·тк	252,1 ± 19,6 ¹	143,3 ± 11,2

Примечание. 1 – различия достоверны по сравнению с показателями в интактной ткани (при $p \leq 0,05$).

Уровень сульфгидрильных групп в условно интактной ткани толстой кишки при метахронном варианте роста опухоли не имел статистически значимых различий с аналогичной тканью при солитарном варианте, а при синхронном показатель превышал значения как в интактной ткани при солитарном раке, так и метахронном в 3,1 и 2,7 раза соответственно ($p \leq 0,05$).

Анализируя состояние интактной ткани при первично-множественном раке толстой кишки можно говорить об активации свободнорадикальных процессов при метахронном раке и репрессии их в интактной ткани при синхронном варианте роста вследствие истощения субстрата окисления по отношению к соответствующей ткани при солитарном варианте роста опухоли.

Далее представляло интерес сравнить состояние свободнорадикальных процессов в ткани опухоли при различных вариантах ее роста. Установлено, что в ткани опухоли

толстой кишки вне зависимости от варианта роста содержание ДК было повышено относительно соответствующей интактной ткани: при одиночном варианте – в 2,6 раза, при синхронном – в 2,5 раза и при метахронном – в 1,6 раза. Однако по сравнению с тканью опухоли при солитарном варианте уровень ДК в ткани метахронных опухолей был повышен на 42,8%, а при синхронно развивающихся опухолях достоверно не изменялся.

Уровень МДА вне зависимости от варианта роста опухоли был снижен по сравнению с соответствующей интактной тканью в среднем в 2,3.

Это сопровождалось снижением содержания в ткани опухоли витаминов-антиоксидантов при всех вариантах роста неоплазмы. Так уровень витамина А при одиночном, синхронном и метахронном вариантах роста рака толстой кишки был снижен на 31,3; 45,5 и 26,7% соответственно, а витамина Е – на 20; 24,3 и 33,3% соответственно (табл. 1, 2, 3).

Таблица 2

Некоторые показатели активности ПОЛ в ткани толстой кишки при синхронном варианте роста опухоли

Показатели	Образцы ткани	
	опухоль	интактная
ДК, нМ/г·тк	15,2 ± 2,9 ¹	6,0 ± 0,4
МДА, нМ/г·тк	1,5 ± 0,1 ¹	3,5 ± 0,3
СОД, усл. ед.	105,9 ± 7,3 ¹	71,4 ± 5,0
Каталаза, усл. ед.	891,9 ± 73,2 ¹	607,3 ± 41,9
ГПО, усл. ед.	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2
Коэффициент СОД/каталаза ×100	11,9 ± 0,9	11,8 ± 0,8
Коэффициент СОД/ГПО	42,4 ± 3,8 ¹	28,6 ± 2,4
Витамин А, усл. ед.	1,2 ± 0,1 ¹	2,2 ± 0,2
Витамин Е, усл. ед.	2,8 ± 0,3 ¹	3,7 ± 0,3
Коэффициент Е/А	2,3 ± 0,25 ¹	1,7 ± 0,15
Сульфгидрильные группы, мкМ/г·тк	640,4 ± 58,7 ¹	444,8 ± 29,6

Примечание. 1 – различия достоверны по сравнению с показателями в интактной ткани (при $p \leq 0,05$).

Уровень сульфгидрильных групп в ткани злокачественной опухоли толстой кишки вне зависимости от варианта роста превышал значения в соответствующей интактной ткани: при солитарном –

в 1,8 раза, при метасинхронном – в 2,2 раза и при синхронном – в 1,4 раза. При этом самый высокий уровень сульфгидрильных групп отмечен в ткани синхронного рака (табл. 1, 2, 3).

Таблица 3

Некоторые показатели активности ПОЛ в ткани толстой кишки при метасинхронном варианте роста опухоли

Показатели	Образцы ткани	
	опухоль	интактная
ДК, нМ/г·тк	27,7 ± 2,9 ¹	17,8 ± 1,4
МДА, нМ/г·тк	3,6 ± 0,4 ¹	8,3 ± 0,8
СОД, усл. ед.	151,3 ± 11,7 ¹	125,2 ± 6,4
Каталаза, усл. ед.	1373,1 ± 126,3	1347,8 ± 121,8
ГПО, усл. ед.	2,0 ± 0,18 ¹	5,4 ± 0,5
Коэффициент СОД/каталаза ×100	11,0 ± 0,8 ¹	9,3 ± 0,7
Коэффициент СОД/ГПО	75,7 ± 5,9 ¹	23,2 ± 2,1
Витамин А, усл. ед.	1,1 ± 0,1 ¹	1,5 ± 0,15
Витамин Е, усл. ед.	3,0 ± 0,3 ¹	4,5 ± 0,4
Коэффициент Е/А	2,7 ± 0,25	3,0 ± 0,25
Сульфгидрильные группы, мкМ/г·тк	370,1 ± 29,1 ¹	167,4 ± 17,9

Примечание. 1 – различия достоверны по сравнению с показателями в интактной ткани (при $p \leq 0,05$).

Вместе с тем активность антиоксидантных ферментов в ткани опухоли изменялась не однонаправленно. Так, общая активность СОД в ткани рака толстой кишки при всех вариантах роста в среднем в 1,4 раза превосходила показатель в соответствующей интактной ткани. Активность ГПО в ткани опухоли толстой кишки при одиночном и синхронном варианте роста не изменялась относительно интактной ткани, а при метасинхронном снижалась в 2,7 раза. Активность каталазы во всех образцах ткани имела тенденцию к повышению. Естественно, коэффициент СОД/ГПО, отражающий эффективность работы естественного каскада

антиоксидантных ферментов, был увеличен во всех образцах ткани опухоли толстой кишки относительно соответствующей интактной ткани: при солитарном и синхронном варианте роста опухоли в 1,5 раза, а при метасинхронном – в 3,3 раза.

Полученные результаты в целом указывают на то, что в ткани опухоли толстой кишки при одиночном и метасинхронном варианте роста свободнорадикальные процессы были репрессированы. Это подтверждалось снижением уровня содержания продуктов ПОЛ – МДА, происходящим на фоне нарушения в работе каскада антиоксидантных ферментов, повышенной способности мем-

бран ткани опухоли к окислению за счет неравномерного снижения уровня витаминов А и Е, являющихся синергистами, и повышенного уровня тиолового статуса ткани.

Наши результаты согласуются с данными литературы о состоянии процессов ПОЛ в ткани злокачественных опухолей человека и животных [1, 4, 5]. Достаточно низкий уровень продуктов ПОЛ и устойчивость опухолевой ткани к инициаторам перекисного стресса является отличительным свойством окислительного метаболизма неоплазмы [3]. Причиной этого явления может быть модификация функционирования естественного каскада антиокислительных ферментов, что отмечено в настоящем исследовании, а также изменение в звене: суммарное содержание природных антиоксидантов – состав липидов – способность липидного субстрата к окислению. Это делает мембраны опухолевых клеток ригидными, но не угнетает их жизнедеятельности [7].

Механизмы, влияющие на активность антиокислительных ферментов, могут быть связаны либо с точечными мутациями, изменяющими частоты сайтов действия, либо с метилированием внешнего цитозина в полипептидной цепи [6]. Возможным механизмом изменения активности ферментов является и активация протеолитических ферментов, способствующих изменению работы генов, их кодирующих. Во всяком случае диссонанс в работе каскада естественных антиокислительных ферментов приводит к нарушению процессов нормальной утилизации активных форм кислорода, в частности, гидроксил анион радикала, ответственного за гетерогенность опухолевой ткани, к изменению транскрипционных факторов, контролирующих процессы апоптоза [11]. Известно также, что способность клеток к апоптозу определяет и уровень содержания витаминов А и Е, а их недостаток, что было обнаружено в нашем исследовании, снижает уровень апоптоза вплоть до его отмены [9]. Известно, что витамин А контролирует рост и цикл деления клеток рака, поэтому его недостаточность обуславливает повышенную пролиферацию последних [10].

Полученные нами результаты изучения свободнорадикальных процессов и показателей обоих звеньев антиокислительной защиты в ткани опухоли толстой кишки свидетельствуют о нарушении их функционирования вне зависимости от варианта роста опухоли и являются, по-видимому, патогенетическим моментом развития неоплазмы.

Список литературы

1. Дашков А.В. Клинико-лабораторные особенности первично-множественного рака молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ростов-на-Дону, 2004. – 24 с.
2. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, И.А. Бондарь, В.А. Труфакин. – Новосибирск, 2008. – 284 с.

3. Пальмина Н.П. Антиоксиданты, тироксидное окисление липидов, протеинкиназа С и рак // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии и биологии: тезисы докл. Юбил. конф., посв. 85-летию акад. Н.М. Эмануэля (Москва, 29 сент., 2-4 окт., 2000г.). – М., 2000. – С. 127–130.

4. Некоторые показатели свободнорадикальных процессов и антиокислительной системы ткани опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны при различных вариантах течения рака / Е.М. Франциянц, Н.В. Солдаткина, Л.А. Орловская, А.В. Дашков // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 38–42.

5. Шаталин Ю.В., Наумов А.А., Поцелуева М.М. Изменение состава клеточных популяций и уровня активных форм кислорода в крови и в асцитической жидкости опухоленосителя // Цитология. – 2010. – 52, № 2. – С. 131–135.

6. Bianchi M.S., Bianchi N.O., Bolzan A.D. Superoxide dismutase activity and superoxide dismutase – I gene methylation in normal and tumoral human breast tissues. //Cancer Genet. andCytogenet. – 1992. – 59, № 1. – P. 26–29.

7. Galeotti T., Massoti L., Borello S., Casali E. Oxy-radical metabolism and control of tumor growth // Xenobiotica. – 1991. – Vol.21. – P.1041–1051.

8. Holmes William F., Dawson Marcia I., Soprano Dianne Robert, Soprano Kenneth J. Induction of apoptosis in ovarian carcinoma cells by retinoic acid receptors // J. Cell. Physiol. – 2000. – 185, № 1. – P. 61–67.

9. Kazue Satoh et al. Induction of apoptosis by cooperative action of vitamins C and E // Anticancer Res. – 1998. – 18, № 6a. – P. 4371–4376.

10. Mira-y-Lopez Rafael et al. Retinol conversion to retinoic acid is impaired in breast cancer cell lines relative to normal cells // J. Cell. Physiol. – 2000. – 185, № 2. – P. 302–309.

11. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoi J., Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer //FEBS Letters. – 1995. – Vol. 358. – P. 1–3.

References

1. Dashkov A.V. Klinikolaboratornye osobennosti pervichnomnozhestvennogo raka molochnoj zhelezy: Avtoreferat dis. kand. med. Nauk, Rostov-na-Donu, 2004, 24 p.

2. Men'wikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Bondar' I.A., Trufakin V.A. Okislitel'nyj stress Patologicheskie sostojaniya i zabolevanija [Oxidative stress: Pathological conditions and diseases]. Novosibirsk, 2008. 284 p.

3. Pal'mina N.P. Tezisy dokl. Jubil. konf., posv.85-letiju akad. N.M. Jemanujelja. (Free radicals and antioxidants in chemistry and biology: Proc. Anniversary. Conf., dedicated. 85th anniversary of academician. NM Emanuel). Moscow, 2000. pp. 127–130.

4. Francijanc E.M., Soldatkina N.V., Orlovskaja L.A., Dashkov A.V. Opuholi zhenskoy reproduktivnoj sistemy. – Tumors of the female reproductive system, 2008, no. 2, pp. 38–42.

5. Shatalin Ju.V., Naumov A.A., Pocelueva M.M. Citologija. – Cytology, 2010, no. 2, pp. 131–135.

6. Bianchi M.S., Bianchi N.O., Bolzan A.D. Superoxide dismutase activity and superoxide dismutase – I gene methylation in normal and tumoral human breast tissues. //Cancer Genet. And Cytogenet. 1992. 59, no. 1. pp. 26–29.

7. Galeotti T., Massoti L., Borello S., Casali E. Oxy-radical metabolism and control of tumor growth // Xenobiotica. 1991. Vol. 21. pp. 1041–1051.

8. Holmes William F., Dawson Marcia I., Soprano Dianne Robert, Soprano Kenneth J. Induction of apoptosis in ovarian carcinoma cells by retinoic acid receptors // J. Cell. Physiol. 2000. 185, no. 1. pp. 61–67.

9. Kazue Satoh et al. Induction of apoptosis by cooperative action of vitamins C and E // Anticancer Res. 1998. 18, no. 6a. pp. 4371–4376.

10. Mira-y-Lopez Rafael et al. Retinol conversion to retinoic acid is impaired in breast cancer cell lines relative to normal cells // J.Cell.Physiol. 2000. 185, no. 2. pp. 302–309.

11. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoi J., Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer //FEBS Letters. 1995. Vol. 358. pp. 1–3.

Рецензенты:

Шихлярова А.И., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник ИАЗ ЮНЦ РАН, г. Ростов-на-Дону;

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 18.01.2013.