

УДК 617.52/.53-006.61-033.2:611.428:577.121.7:535.379

## СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ГОЛОВЫ И ШЕИ

<sup>1</sup>Мусин Ш.И., <sup>2</sup>Фархутдинов Р.Р.<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России», Уфа ;<sup>2</sup>ЦНИЛ, Уфа, e-mail: musin\_shamil@mail.ru

Проведен анализ показателей хемилюминесценции, общего антиоксидантного статуса и малонового диальдегида в гомогенате лимфатических узлов пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи. Интенсивность ХЛ в модельной системе был статистически достоверно выше, чем в лимфоузлах, пораженных метастазами, по сравнению с лимфоузлами, свободными от метастазов. При этом в группе больных, ранее получавших лечение, не отмечено повышение хемилюминесценции в метастатических и свободных от метастазов лимфоузлах по сравнению с первичными больными. Выявлена достоверная разница между интенсивностью хемилюминесценции в метастатических и свободных от метастазов лимфоузлах у первичных больных. В метастатических лимфоузлах отмечено повышение содержания малонового диальдегида и снижение общего антиоксидантного статуса. Уровень хемилюминесценции в метастатических лимфоузлах зависит от типа дифференцировки метастазов плоскоклеточного рака.

**Ключевые слова:** метастазы в лимфатические узлы шеи, плоскоклеточный рак головы и шеи, свободные радикалы, хемилюминесценция, малоновый диальдегид, общий антиоксидантный статус

## STATUS OF FREE RADICAL OXIDATION IN THE REGIONAL LYMPH NODES WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE HEAD AND NECK

<sup>1</sup>Musin S.I., <sup>2</sup>Farkhutdinov R.R.<sup>1</sup>Bashkir State Medical University, Ufa;<sup>2</sup>Central Research Laboratory, Ufa, e-mail: musin\_shamil@mail.ru

The analysis of the performance of the chemiluminescence, total antioxidant status and malondialdehyde in the homogenate of lymph nodes in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. The intensity of the chemiluminescence in the model system was significantly higher than in metastatic lymph nodes compared with lymph nodes free of metastases. In the group of patients previously treated with no noted increase in chemiluminescence and metastatic lymph node metastasis-free compared to the primary case. There was a significant difference between the intensity of chemiluminescence and in metastatic lymph node metastases-free patients in the primary. In the metastatic lymph nodes was an increase in the content of malondialdehyde and decreased total antioxidant status. Level of chemiluminescence in the metastatic lymph nodes depends on the type of differentiation of squamous cell carcinoma metastases.

**Keywords:** lymph nodes in the neck, squamous cell carcinoma of the head and neck, free radicals, chemiluminescence, malondialdehyde, total antioxidant status

В структуре злокачественных новообразований на плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) приходится около 5% [3]. Одним из основных параметров, определяющих прогноз лечения ПРГШ, является степень распространения опухолевого процесса на момент диагностики. При обращении в лечебное учреждение метастазы в регионарные лимфоузлы имеют от 30 до 60% пациентов, что является наиболее важным прогностическим фактором [6, 10]. Так, у больных с метастазами в лимфатические узлы выживаемость снижена на 50%. Контроль регионарных путей лимфооттока представляет сложную и до конца нерешенную проблему.

В патогенезе злокачественной трансформации и развития опухоли важную роль отводят свободнорадикальному окислению (СРО) – образованию активных форм кислорода (АФК) и перекисному окислению липидов (ПОЛ). Имеются данные, которые свидетельствуют, что опухолевые клетки

различных типов характеризуются повышенным образованием свободных радикалов и накоплением продуктов окисления [4, 5, 7, 9]. Однако имеется ряд работ, где обнаружена высокая активность антиоксидантных ферментов в опухолевых клетках [1, 8]. Это может являться одной из причин их устойчивости к «окислительному стрессу» и служить фактором развития резистентности опухолей к лечебным воздействиям, в основе механизма действия которых лежит активация СРО.

Во многих работах рассматриваются изменения показателей свободнорадикального окисления в опухолевой ткани или ткани вокруг опухоли, в крови, но не исследовано состояние этого процесса в регионарных лимфатических узлах.

**Целью данного исследования** было изучение состояния свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в лимфатических узлах шеи у больных плоскоклеточным раком головы и шеи.

### Материалы и методы исследования

Было обследовано 30 пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи, получавших лечение в отделении «Опухоли головы и шеи» Республиканского клинического онкологического диспансера МЗ РБ (г. Уфа). В исследовании включены следующие больные: рак нижней губы – 3, полости рта – 11, ротоглотки – 1, гортаноглотки – 3, гортани – 11, верхнечелюстной пазухи – 1. У всех больных гистологически подтвержден плоскоклеточный рак разной степени дифференцировки. Среди пациентов женщин – 9 (30%) и мужчин – 21 (70%), возраст больных варьировался от 45 до 75 лет. Первично обратились в лечебное учреждение 16 пациентов, повторно – 14. Операции разного объема только на путях лимфатического оттока перенесли 13 больных, двоим была выполнена биопсия «сторожевого» лимфоузла, 15 больным проведена расширенная операция на первичном очаге и путях лимфооттока. После операции выделяли лимфоузлы (ЛУ), в гомогенатах которых определяли интенсивность свободнорадикального окисления, количество одного из конечных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДМ), оценивали общий антиоксидантный статус.

Концентрацию МДА в образцах измеряли с помощью набора для определения ТБК-активных продуктов фирмы «Агат». Общий антиоксидантный статус оценивали набором фирмы «Randox». Определяли степень изменения хемилюминесценции (ХЛ)-свечения модельной системы, связанной с образованием АФК, при добавлении к ней гомогената ЛУ [2].

Статистическая обработка результатов проводилась в операционной среде Windows XP с использованием статистической программы «Statistica 6.0». Характер распределения количественных признаков оценивался по критерию Колмогорова–Смирнова. Достоверность различий количественных показателей оценивалась по критерию Манна–Уитни, а относительных показателей по  $\chi^2$ -критерию Пирсона.

### Результаты исследования и их обсуждение

При добавлении к модельной системе генерирующей АФК гомогената метастатических ЛУ интенсивность ХЛ повышалась (рис. 1), что свидетельствовало о способности опухолевой ткани вырабатывать АФК.

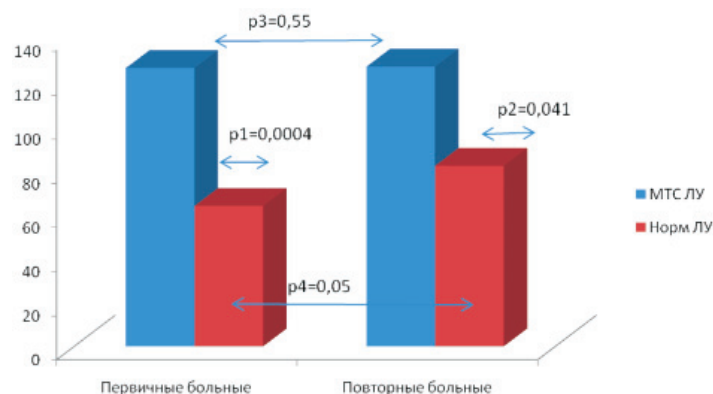


Рис. 1. Уровень показателей хемилюминесценции гомогената лимфатических узлов у первичных больных и больных, перенесших ранее лечение

ХЛ гомогената метастатических ЛУ в модельной системе повышалась в 1,5 раза как у группы первичных больных, так и у пациентов, получавших ранее лечение. Разница между ними статистически была недостоверна ( $p_3 = 0,55$ ).

Гомогенаты ЛУ свободных от метастазов, наоборот, снижали интенсивность ХЛ в модельной системе на 20–30%, что свидетельствует о способности гомогената ткани подавлять генерацию АФК. Это отмечалось как у первичных пациентов, так и у пациентов, получавших ранее лечение. Разница между ними статистически была недостоверна ( $p_4 = 0,05$ ).

Показатель ХЛ модельной системы при добавлении метастатических ЛУ в группе первичных пациентов и в группе пациентов, ранее получавших лечение, статистически оказался выше, чем ХЛ модельной системы в присутствии гомогената ЛУ, свободных от метастазов ( $p_1 = 0,0004$ ,

$p_2 = 0,041$ ). Полученные результаты согласуются с данными литературы, по которым следует, что в опухолевой ткани поддерживаются высокие показатели свободнорадикального окисления.

Гомогенаты ЛУ, пораженные метастазами и свободные от них, взятые у больного, оказывали различное влияние на ХЛ модельной системы. В группе как первичных, так и повторных больных интенсивность ХЛ гомогената метастатических ЛУ, был выше, чем в ЛУ свободных от метастазов ( $p_1 = 0,013$ ,  $p_2 = 0,117$ ). Таким образом, показатель уровня ХЛ гомогената ткани можно использовать как маркер для диагностики метастатического поражения ЛУ у первичных больных ( $p_1 = 0,013$ ).

При оценке общего антиоксидантного статуса наборами фирмы «Randox» в ЛУ, пораженных метастазами, показатель был в 3 раза ниже, чем в гомогенатах ЛУ, которые были свободны от метастазов.

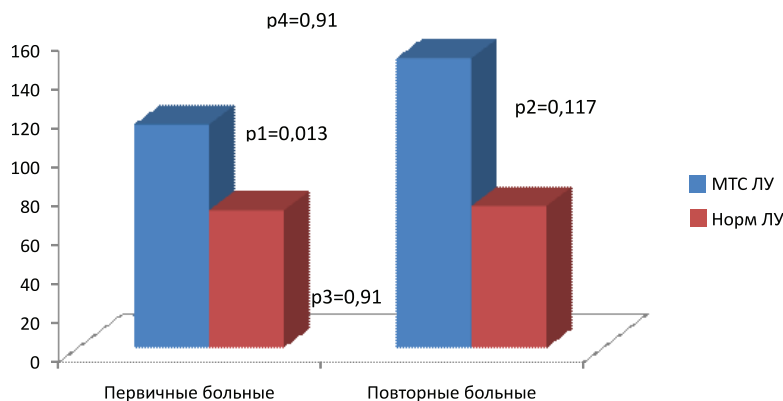


Рис. 2. Показатели ХЛМ метастатических и нормальных ЛУ, взятых у одних и тех же больных

Содержание конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида, напротив, в метастатических ЛУ оказался в 2 раза выше, чем в лимфатических узлах, свободных от метастазов.

Таким образом, в гомогенатах метастатических лимфатических узлов отмечено повышенное содержание МДА и низкий общий антиоксидантный статус. Чем выше содержание МДА, тем ниже уровень ОАС, что демонстрирует истощение антиоксидантов в опухолевой ткани.

Проведена оценка показателей интенсивности хемилюминесценции гомогената ЛУ в модельной системе в зависимости от гистологического типа опухоли. У 17 больных (56,6%) были гистологически ве-

риффицированные метастазы в ЛУ шеи: у 7 пациентов (41,2%) выявлены метастазы высокодифференцированного плоскоклеточного рака, у 6 пациентов (35,3%) – метастазы умеренно-дифференцированного плоскоклеточного рака и у 4 пациентов (23,5%) – метастазы низкодифференцированного рака. Показатели интенсивности ХЛ в группе больных с метастазами высокодифференцированного плоскоклеточного рака оказались статистически достоверно ниже, чем у пациентов с метастазами умеренно-дифференцированного плоскоклеточного рака ( $p = 0,01$ ). Полученные данные свидетельствуют, что интенсивность свободнорадикального окисления зависит от гистологического типа опухоли, и требуют дальнейшего детального изучения.

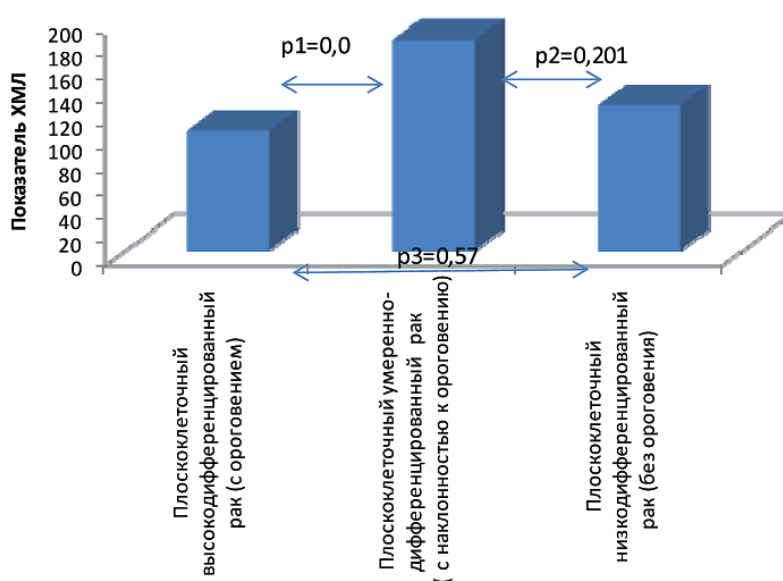


Рис. 3. Показатели ХЛМ в зависимости от гистологического типа метастазов

**Выводы**

1. Интенсивность хемилюминесценции и содержание МДА в гомогенатах лимфатических узлов, пораженных метастазами, выше, чем в лимфоузлах, свободных от метастазов, в то время как антиоксидантный статус ниже.

2. Повышенный уровень хемилюминесценции, содержания продуктов окисления и снижение антиоксидантной активности в гомогенатах лимфатических узлов может служить маркером их метастатического поражения у первичных больных.

**Список литературы**

1. Борунов Е.В., Смирнова Л.П., Щепеткин И.А. Высокая активность антиокислительных ферментов как фактор избегания контроля иммунной системы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1989. – Т. 4. – С. 41–43.
2. Фархутдинов Р.Р., Тевдоразде С.И. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сб. докл. науч.-практич. семинара. – М., 2005. – С. 147–154.
3. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. (ред.) Состояние онкологической помощи населению России в 2011 году / ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. – М., 2012. – 240 с.
4. Ambrosone C.B. Oxidants and antioxidants in breast cancer // *Antioxid. Redox Signal.* – 2000. – Vol. 2, Issue 4. – P. 903–917.
5. Emerit I. Reactive oxygen species, chromosome mutation, and cancer: Possible role of clastogenic factors in carcinogenesis // *Free Radic. Biol. Med.* – 1994. – Vol. 16, Issue 1. – P. 99–109.
6. Resection margins and other prognostic factors regarding surgically treated glottic carcinomas / A.D. Karatzanis, F. Waldfahrer, G. Psychogios [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2010. – Vol. 101, Issue 2. – P. 131–136.
7. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis / J.E. Klaunig, Y. Xu, J.S. Isenberg [et al.] // *Environ. Health Pers.* – 1998. – Vol. 106, Suppl. 1. – P. 289–295.
8. Redox-based escape mechanism from death: the cancer lesson / G. Pani, E. Giannoni, T. Galeotti, P. Chiarugi // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – Vol. 11, № 11. – P. 2791–806.
9. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology // *Pathol. Int.* – 1999. – Vol. 49, Issue 2. – P. 91–102.
10. Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread /

J.A. Woolgar, S.N. Rogers, D. Lowe [et al.] // *Oral Oncol.* – 2003. – Vol. 39, № 2. – P. 130–137.

**References**

1. Borunov E.V., Smirnova L.P., Shhepetkin I.A. Vysokaja aktivnost' antiokislitel'nyh fermentov kak faktor izbeganiya kontrolja immunoj sistemy // *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny.* 1989. T. 4. pp. 41–43.
2. Farhutdinov R.R., Tevdoradze S.I. // *Metody ocenki antioksidantnoj aktivnosti biologicheskij aktivnyh veshhestv lechebnogo i profilakticheskogo naznachenija: sb. dokl. nauch.-praktich. seminar. M., 2005. pp. 147–154.*
3. Chissov V.I., Starinskij V.V., Petrova G.V. (red.) *Sostojanie onkologicheskoy pomoshhi naseleniju Rossii v 2011 godu / FGBU «MNIОI im. P.A. Gercena» Minzdravsocrazvitija Rossii. M., 2012. 240 p.*
4. Ambrosone C.B. Oxidants and antioxidants in breast cancer // *Antioxid. Redox Signal.* 2000. Vol. 2, Issue 4. pp. 903–917.
5. Emerit I. Reactive oxygen species, chromosome mutation, and cancer: Possible role of clastogenic factors in carcinogenesis // *Free Radic. Biol. Med.* 1994. Vol. 16, Issue 1. pp. 99–109.
6. Resection margins and other prognostic factors regarding surgically treated glottic carcinomas / A.D. Karatzanis, F. Waldfahrer, G. Psychogios [et al.] // *J. Surg. Oncol.* 2010. Vol. 101, Issue 2. pp. 131–136.
7. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis / J.E. Klaunig, Y. Xu, J.S. Isenberg [et al.] // *Environ. Health Pers.* 1998. Vol. 106, Suppl. 1. pp. 289–295.
8. Redox-based escape mechanism from death: the cancer lesson / G. Pani, E. Giannoni, T. Galeotti, P. Chiarugi // *Antioxid. Redox Signal.* 2009. Vol. 11, no. 11. pp. 2791–806.
9. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology // *Pathol. Int.* 1999. Vol. 49, Issue 2. pp. 91–102.
10. Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread / J.A. Woolgar, S.N. Rogers, D. Lowe [et al.] // *Oral Oncol.* 2003. Vol. 39, no. 2. pp. 130–137.

**Рецензенты:**

Ганцев Ш.Х., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии с курсами ИПО Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа;

Липатов О.Н., д.м.н., профессор, заведующий курса онкологии ИПО Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 26.03.2013.