УДК 616.348-006.66-074

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ДЕСТАБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА ОБОДОЧНОЙ КИШКИ, ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

[1]Чеснокова Н.П., [1,2]Барсуков В.Ю., [1]Понукалина Е.В., [1]Агабеков А.И.

[1]ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, e-mail: Dr.albert.agabekov@yandex.ru;

[2]НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД», Саратов

В работе проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 46 пациентов с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки, находившихся на лечении на базе НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД» за период с 2009 по 2014 гг. Изучено содержание промежуточных продуктов липопероксидации в крови и перекисной резистентности эритроцитов, а также состояние антирадикальной защиты клеток по показателям активности супероксиддисмутазы, каталазы, уровню витамина Е в крови у больных раком восходящего отдела ободочной кишки на различных стадиях распространения неоплазии. Одновременно определяли динамику изменения содержания в крови молекул средних масс – интегративного показателя аутоинтоксикации. В работе использованы традиционные спектрофотометрические методы оценки вышеуказанных метаболических показателей. Установлено, что начальные стадии развития аденокарциномы ободочной кишки характеризуются повышенным содержанием в крови диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, в то же время наблюдается недостаточность ферментного звена антиоксидантной системы крови, а также снижение уровня витамина Е. Активация процессов липопероксидации закономерно сочеталась с возрастанием содержания в крови молекул средней массы, прогрессирующим по мере распространения опухолевого процесса.

Ключевые слова: аденокарцинома, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза

REGULARITIES OF CHANGES IN FREE RADICAL DESTABILIZATION PROCESSES OF BIOLOGICAL MEMBRANES IN CASES OF COLON ASCENDENS ADENOCARCINOMA AND THE ROLE OF SUCH REGULARITIES IN NEOPLASTIC PROLIFERATION DEVELOPMENT

[1]Chesnokova N.P., [1,2]Barsukov V.Y., [1]Ponukalina E.V., [1]Agabekov A.I.

[1]V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of Russian Minzdrav State Government-Funded Educational Institution of Higher Professional Education, Saratov, e-mail: Dr.albert.agabekov@yandex.ru;

[2]Railway Clinical Hospital at the Saratov-II Station of the RZhD OAO (Open Joint-Stock Company) Non-Government Healthcare Institution, Saratov

46 patients suffering from colon ascendens adenocarcinoma underwent the thorough clinical and laboratory examination for the purposes of this paper. These patients had courses of medical treatment at the Railway Clinical Hospital at the Saratov II Station NUZ (Non-Governmental Healthcare Institution) of Russian Railways OAO during the period from 2009 to 2014. The content of intermediary products of lipid peroxidation in blood, peroxide resistance of red blood cells and the antiradical cell protection state were examined based on activity indices of superoxide dismutase, catalase, and vitamin E level in blood of patients with colon ascendens adenocarcinoma at different stages of neoplastic process. At the same time, the progress of changes in middle weight molecules content in blood, which is the integrative index of autointoxication, was determined. The conventional spectrophotometric methods for assessment of the metabolic indices mentioned above were applied. It was established that the initial stages of colon ascendens adenocarcinoma are characterized by the increased diene conjugates and malondialdehyde contents in blood while the enzyme part of the blood antioxidant system is insufficient and the level of vitamin E is decreased. Lipid peroxidation process activation was regularly coupled with increase in middle weight molecules content in blood which is progressive due to neoplastic process development.

Keywords: adenocarcinoma, diene conjugates, malondialdehyde, superoxide dismutase

До настоящего момента остаются актуальными проблемы оптимизации методов диагностики и прогнозирования течения рака толстой кишки, занимающего лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта. Ежегодно в мире регистрируется около 800 тысяч вновь выявленных случаев рака толстой кишки. Несмотря на постоянное совершенствование методов комплексной терапии, заболеваемость в России за последние 50 лет (с 1960 по 2010 гг.) возросла в 7 раз [3].

Согласно современным концепциям канцерогенез – процесс многостадийной

мутации ДНК клеток различной морфофункциональной организации, приводящий к их малигнизации, промоции, опухолевой прогрессии, формированию автономных ассоциальных нерегулируемых структур [4].

Инициирующими факторами малигнизации клеток, сопровождающейся экспрессией онкогенов, подавлением активности супрессирующих генов и генов апоптоза, являются воздействия физических, химических, биологических патогенов экзогенной или эндогенной природы [1]. Однако малигнизация клеток не означает развития опухолевого процесса или тем более онкологического заболевания. Как известно, малигнизированные клетки постоянно образуются в организме и элиминируются под влиянием иммунологических механизмов защиты и неспецифических факторов резистентности. В связи с этим очевидная роль в развитии стадии промоции и опухолевой прогрессии системных паранеопластических функциональных и метаболических расстройств, потенцирующих прото- или антионкогенное действие канцерогенов [4].

В последние годы в механизмах канцерогенеза важная роль отводится избыточному образованию активных форм кислорода, обладающих не только выраженным мутагенным действием, но и инициирующих процессы липопероксидации в биологических мембранах и соответственно нарушающих контактное взаимодействие малигнизированных клеток, способствующих их метастазированию [2].

Между тем остаются в значительной мере неизученными закономерности системных паранеопластических расстройств при раке ободочной кишки, в частности, ее восходящего отдела. Так, не установлено значение активации процессов липопероксидации в развитии опухолевой прогрессии в распространении неоплазии при указанной патологии. В связи с этим показатели системных паранеопластических метаболических расстройств не учитываются в диагностике и прогнозировании течения заболевания, оценке эффективности комплексной терапии.

Цель исследования – установить закономерности изменений процессов липопероксидации и активности антиоксидантной системы крови в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки для патогенетического обоснования новых критериев системных паранеопластических расстройств и оптимизации традиционных методов диагностики и прогнозирования течения заболевания.

Материал и методы исследования

Проведено комплексное клинико-лабораторное исследование 46 больных с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местно-распространенных (T3-4(а,в) N0M0, T3–4(а,в) N1-2M0) стадиях заболевания, находившихся на лечении в клинике хирургии и онкологии ФПК и ППС ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» на базе НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД» за период с 2009 по 2014 гг.

Верификация диагноза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки произведена на основе традиционного клинико-лабораторного обследования больных с использованием следующих методов обследования: колоноскопии, рентгенологического исследования, компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии, ультразвукового исследования органов брюшной полости, цитологического и гистологического методов исследований.

Степень распространенности неоплазии оценивали в соответствии с последней классификацией TNM [6]. Группу сравнения составили 24 здоровых человека без клинически выраженных проявлений какой-либо патологии. Группы исключения составили пациенты с предшествующими или сопутствующими онкологическими и аллергическими заболеваниями, эндокринопатиями, декомпенсированными формами висцеральной патологии.

Для решения поставленных задач проведена сравнительная оценка содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации: диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МД), молекул средних масс (МСМ).

Состояние антиоксидантной системы крови оценивали по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и содержанию витамина Е в крови с использованием общепринятых колориметрических и спектрофотометрических методов исследования.

Математическую обработку полученных результатов проводили с применением программы Statistica for Windows (версия 6.0) с помощью общепринятых методов статистического анализа, позволивших определить критерии достоверности Стьюдента, расчет средней арифметической. Достоверными считали различия при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что активация процессов липопероксидации возникает уже на начальных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (T1–2N0M0). Об этом свидетельствует возрастание содержания в крови ДК и МД. Одновременно с возрастанием промежуточных продуктов липопероксидации увеличилось и содержание в крови молекул средних масс (МСМ) (табл. 1). Известно, что указанный показатель (МСМ) отражает интенсивность накопления в крови низкомолекулярных белков, пептидов, продуктов распада липидных компонентов мембран и соответственно является интегративным показателем катаболических реакций и аутоинтоксикации организма.

Таблица 1

Состояние активности процессов липопероксидации и перекисной резистентности эритроцитов при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа		Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки					
			Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)			Местно-распространенные стадии заболевания (T3-4(а,в) N0M0, T3–4(а,в)N1-2M0)		
	N	M ± m	*n*	M ± m	P	*N*	M ± m	P
ПРЭ (% гемолиз.эр.)	24	1,45 ± 0,032	22	2,37 ± 0,02	P < 0,001	24	2,81 ± 0,04	P < 0,001 P1 < 0,001
МДА в крови (нмоль/мл)	24	3,1 ± 0,04	22	3,94 ± 0,133	P < 0,001	24	4,99 ± 0,131	P < 0,001 P1 < 0,001
ДК в крови (ед./мл)	24	1,48 ± 0,031	22	2,16 ± 0,039	P < 0,001	24	3,04 ± 0,09	P < 0,001 P1 < 0,001
МСМ (ед.опт.пл.)	24	0,21 ± 0,007	22	0,37 ± 0,011	P < 0,001	24	0,48 ± 0,013	P < 0,001 P1 < 0,001

Примечания:
P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 – рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологии.

Дальнейшие исследования позволили установить, что в основе активации процессов липопероксидации лежит недостаточность ферментного звена антиоксидантной системы крови, что нашло отражение в снижении активности СОД в крови (табл. 2). Одновременно снижалось и содержание в крови витамина Е – так называемой «ловушки» свободных радикалов (табл. 2).

По мере распространения опухолевого процесса возникало дальнейшее возрастание содержания МД и ДК (табл. 1), усугублялась недостаточность ферментного звена антиоксидантной системы крови, проявляющаяся прогрессирующим снижением активности СОД и уровня витамина Е. Активность каталазы практически не изменялась (табл. 2), однако имело место снижение перекисной резистентности эритроцитов в динамике распространения аденокарциномы ободочной кишки.

Таблица 2

Показатели состояния активности антирадикальной защиты клеток у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки при локальных и местно-распространенных стадиях заболевания

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа		Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки					
			Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)			Местно-распространенные стадии заболевания (T3-4(а,в) N0M0, T3–4(а,в)N1-2M0)		
	n	M ± m	*N*	M ± m	P	*N*	M ± m	P
СОД в цельной крови (Ед/мл)	24	418,3 ± 20,57	22	359,4 ± 17,48	P < 0,05	24	311,2 ± 15,27	P < 0,001 P1 < 0,001
Витамин Е в сыворотке крови (Ед. опт. плотности)	24	22,4 ± 1,09	22	18,7 ± 0,71	P < 0,05	24	15,2 ± 0,46	P < 0,001 P1 < 0,01
Каталаза эритроцитов (мк Е /1л эр.)	24	5,12 ± 0,149	22	5,37 ± 0,164	P > 0,05	24	5,39 ± 0,167	P > 0,05 P1 > 0,05

Примечания:
P – рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 – рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологии.

Касаясь биологической закономерности выявленных нами закономерностей развития системных метаболических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, следует остановиться на анализе данных литературы. Установлено, что свободнорадикальное окисление, в частности процессы липопероксидации, являются неспецифическим эфферентным звеном развития ряда типовых патологических процессов и заболеваний, определяя в значительной мере тяжесть течения патологии [5].

Свободные радикалы – это чрезвычайно реактогенные окислители, играющие важную роль в процессах метаболизма клеток в условиях нормы и патологии. Избыточное образование свободных радикалов достаточно быстро приводит к дезорганизации структур клетки за счет активации процессов липопероксидации, модификации ферментных и опорных белков клеток, белковых и липидных фракций крови, биологических жидкостей, межклеточного матрикса [2].

Выявленный нами факт увеличения содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации является косвенным свидетельством избыточного образования активных форм кислорода, в частности супероксид-аниона, убихинона и других, в процессе превращения которых образуются активные молекулярные соединения: перекись водорода, гидроксильные радикалы и другие. Указанные активные формы кислорода вступают во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (линолевой, линоленовой, арахидоновой) – важнейшими компонентами фосфолипидов биологических мембран клеток.

Как известно, в молекуле арахидоновой кислоты имеется наибольшее количество двойных связей, поэтому она легче подвергается свободнорадикальному окислению. Отрыв атома водорода в альфа-положении по отношению к двойной связи приводит к образованию диеновых конъюгатов. Дальнейшие реакции с участием активных форм кислорода сопровождаются образованием высокотоксичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – альдегидов, кетонов, спиртов, то есть к окислительной дезорганизации биологических мембран и нарушению их многочисленных функций, в том числе межклеточного взаимодействия контактного ингибирования и развитию метастазирования опухолевых клеток.

Таким образом, полученные нами данные относительно возрастания содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации, снижения перекисной резистентности эритроцито, убедительно свидетельствуют о том, что одним из патогенетических факторов опухолевой прогрессии в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки является глубокая системная дезорганизация структуры и функций биологических мембран клеток различной морфофункциональной организации.

Одним из патогенетических факторов интенсификации процессов липопероксидации может явиться абсолютная или относительная недостаточность механизмов антиоксидантной защиты клеток.

Важнейшими механизмами антиоксидантной защиты клеток являются ферментативное расщепление супероксидного аниона-радикала, а также наличие «ловушек» свободных радикалов. В связи с этим были проведены исследования активности СОД, каталазы, уровня витамина Е в крови. Обнаруженное нами прогрессирующее снижение активности СОД на фоне столь же усиливающейся активации процессов липопероксидации и снижения перекисной резистентности эритроцитов в динамике заболевания свидетельствовали об избыточном накоплении супероксид-анион-радикала. Как известно, в процессе дисмутации супероксиданион-радикала образуется перекись водорода, разрушаемая каталазой. Как показали проведенные нами исследования, активность каталазы оставалась стабильной в динамике распространения опухолевого процесса, что указывало на относительную недостаточность активности этого фермента.

Известно, что важная роль в инактивации свободных радикалов отводится внутриклеточным и внеклеточным перехватчикам радикалов, в частности витаминам Е, К, убихинону, каратиноидам, флавоноидам и другим соединениям.

Проведенные нами исследования свидетельствовали о недостаточности и этого звена антиоксидантной системы крови, на что указывало снижение уровня витамина Е в крови, достигающее минимума на метастатических стадиях заболевания (Т3-4(а,в) N0M0, Т3–4(а,в)N1-2M0).

Выводы

1. Одной из закономерностей паранеопластических расстройств при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки является системная активация процессов липопероксидации, коррелирующая с аутоинтоксикацией.

2. Обнаружен параллелизм между интенсификацией процессов липопероксидации и стадиями распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, на что указывало возрастание содержания в крови МДА и ДК, достигающее максимума в период развития местно-распространенных стадий заболевания (Т3-4(а,в) N0M0, Т3–4(а,в)N1-2M0).

3. Патогенетическими факторами системной активации процессов липопероксидации при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки являются прогрессирующая недостаточность активности супероксиддисмутазы крови и падение содержания витамина Е в крови.

4. Полученные данные свидетельствуют о необходимости включения в комплексную терапию предоперационного периода больных с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки фармацевтических препаратов со свойствами атиоксидантов, антигипоксантов и мембранопротекторов.

5. Мониторинг показателей состояния процессов липопероксидации, антиоксидантной системы крови и аутоинтоксикации может быть использован в целях расширения традиционных критериев диагностики и прогнозирования течения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, оценки эффективности терапии.

Список литературы

1. Абелев Г.И. Эрайзер Т.Л. На пути к пониманию природы рака. Обзор // Биохимия. – 2008.- Т. 73. – № 5. – С. 605–618.

2. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии: коллективная монография / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2012.

3. Александров В.Б. Рак прямой кишки. М., 2006. Белоусова Е.А. Воспалительные заболевания толстой кишки как предраковые заболевания // Рос. журн. гастроэнтерол. гнпатол. Колопроктол. – 2002. – Т. 12, № 4. – С. 56–62.

4. Канцерогенез: патофизиологические и клинические аспекты / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов: Изд-во: СГМУ, 2011. – 600 с.

5. TNM: Классификация злокачественных опухолей / под ред. Л.Х. Собина и др.; пер. с англ. и научн. ред. А.И. Щёголев, Е.А. Дубова, К.А. Павлов. – М.: Логосфера, 2011. – 304 с.

References

1. Abelev G.I. Na puti k ponimaniju prirody raka. Obzor. / G.I. Abelev, T.L. Jeraj-zer // Biohimija. 2008. T. 73. no. 5. pp. 605–618.

2. Aktivacija lipoperoksidacii kak vedushhij patogeneticheskij faktor razvitija tipo-vyh patologicheskih processov i zabolevanij razlichnoj jetiologii: kollektivnaja mono-grafija / pod obshhej red. V.M. Popkova, N.P. Chesnokovoj, M.Ju. Ledvanova. Saratov: Izd-vo SGMU, 2012.

3. Aleksandrov V.B. Rak prjamoj kishki. M., 2006. Belousova E.A. Vospalitel'nye zabo-levanija tolstoj kishki kak predrakovye zabolevanija // Ros. zhurn. gastrojenterol. gnpatol. Koloproktol. 2002. T. 12, no. 4. pp. 56–62.

4. Kancerogenez: patofiziologicheskie i klinicheskie aspekty / Pod obshhej red. V.M. Popkova, N.P. Chesnokovoj, V.Ju. Barsukova. Saratov: Izd-vo: SGMU, 2011, 600 p.

5. TNM: Klassifikacija zlokachestvennyh opuholej / Pod red. L.H. Sobina i dr.; per. s angl. I nauchn. Red. A.I. Shhjogolev, E.A. Dubova, K.A. Pavlov. M.: Logosfera, 2011. 304 p.

Рецензенты:

Моррисон В.В., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии им. А.А. Богомольца, ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов;

Попова Т.Н., д.м.н., профессор кафедры хирургии и онкологии ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 12.02.2015.