

УДК 612.015: 618.16 – 006.6 – 036.66

ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ВУЛЬВЫ С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ РЕМИССИИ

Горошинская И.А., Неродо Г.А., Сурикова Е.И., Качесова П.С., Шалашная Е.В.,
Неродо Е.А., Немашкалова Л.А., Леонова А.В.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Минздрава России»,
Ростов-на-Дону, e-mail: iagor17@mail.ru

Проведено сравнительное исследование интенсивности окислительных процессов и состояния антиоксидантной системы крови у 46 больных раком вульвы (плоскоклеточная карцинома) I-III стадии с различной длительностью периода ремиссии. В плазме крови больных исследованы интенсивность хемилюминесценции, состояние ряда звеньев антиоксидантной системы (активность каталазы, церулоплазмينا), содержание продуктов пероксидации липидов и белков общепринятыми спектрофотометрическими методами. У больных с коротким сроком ремиссии сохранялось состояние значительной активации окислительных процессов в плазме крови, проявлявшееся усилением генерации свободных радикалов, увеличением уровня продуктов липопероксидации и окислительной модификации белков. При длительной ремиссии интенсивность окислительных процессов снижалась, система крови «свободнорадикальное окисление – антиоксидантная защита» переходила на новый стационарный уровень.

Ключевые слова: рак вульвы, длительность ремиссии, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная система, окислительная модификация белков

INTENSITY OF OXIDATIVE PROCESSES AND STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENTS WITH DIFFERENT VULVAR CANCER REMISSION DURATION

Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Shalashnaya E.V.,
Nerodo E.A., Nemashkalova L.A., Leonova A.V.

Rostov Scientific Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: iagor17@mail.ru

A comparative study of the intensity of oxidative processes and antioxidant status of the blood in 46 patients with vulvar cancer (squamous cell carcinoma) I-III stage with different duration of remission was carried out. The intensity of the chemiluminescence, state of a number of units of the antioxidant system (catalase, ceruloplasmine), the content of the products of peroxidation of lipids and proteins in the blood plasma of patients were studied by conventional spectrophotometric techniques. In patients with short-term remission significant activation of oxidative processes in the plasma persisted, that was manifested by increased generation of free radicals, increased levels of lipid peroxidation products and oxidative modification of proteins. At long-term remission intensity of oxidative processes decreased, and the system «free radical oxidation – antioxidant protection» moved to a new steady-state level.

Keywords: vulvar cancer, remission duration, free radical oxidation, antioxidant system, oxidative modification of proteins

Несмотря на визуально доступную локализацию, заболеваемость раком вульвы не имеет тенденции к снижению, а по данным некоторых авторов возрастает. Более половины случаев заболевания диагностируется в III-IV стадии. Рак вульвы преимущественно является патологией пожилого и старческого возраста. Больные с данной локализацией отличаются быстрым рецидивированием (до 30-60%) и агрессивным течением. Рецидивы рака вульвы в сравнении с первичной опухолью отличаются более злокачественным течением, хуже поддаются лечению, нередко приводят к нарушению анатомии в зоне возникновения. При этом рецидивы заболевания значительно чаще становятся причиной смерти больных [2, 5, 6]. В связи с этим изучение особенностей клинического течения рака вульвы и факторов, влияющих на длительность ремиссии, представляет несомненный интерес. Процессы свободнорадикального окисления играют важную роль

в регуляции основных клеточных программ, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз, что обуславливает важность сохранения баланса между процессами наработки активированных кислородных метаболитов и их утилизации антиоксидантной системой. Интенсивность протекания свободнорадикальных реакций и активность антиоксидантной системы в крови являются интегральными показателями и отражают реакцию организма на развитие патологии и проведенное лечение.

Цель исследования. Провести сравнительное исследование интенсивности окислительных процессов и состояния антиоксидантной системы крови в группах больных раком вульвы с различной длительностью периода ремиссии.

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 46 больных раком вульвы I-III стадии с плоскоклеточной карци-

номой (средний возраст $64,2 \pm 1,7$ лет), прошедших комплексное лечение в стационаре и находящихся на мониторинге в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ. У 22 женщин длительность периода ремиссии составляла не более 3 лет (группа с коротким сроком ремиссии), при этом у нескольких женщин в период мониторинга состояние ремиссии сменялось рецидивом. У 24 женщин длительность периода ремиссии была значительной и составляла от 3 до 23 лет (группа с длительной ремиссией). Контрольную группу составили 30 здоровых женщин без онкологической и гинекологической патологии (средний возраст $58,4 \pm 2,7$ лет).

В плазме крови больных оценивали светосумму быстрой вспышки перекись-индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), отражающей содержание в системе супероксид-анион радикала и гидроксильного радикала. Активность антиоксидантного фермента каталазы определяли методом, основанным на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдата аммония стойкий окрашенный комплекс. Оксидазную активность белкового антиоксиданта плазмы церулоплазмينا определяли общепринятым методом H.A.Ravin с р-фенилендиамином. Кроме того, определяли содержание церулоплазмينا на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 (Roche) иммунотурбидиметрическим методом. Интенсивность

липопероксидации оценивали спектрофотометрическим методом по накоплению в плазме крови продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных соединений) в пересчете на концентрацию малонового диальдегида (МДА), как наиболее изученного продукта перекисного окисления липидов. Интенсивность окислительной модификации белков (ОМБ) плазмы крови оценивали по содержанию карбонильных производных аминокислотных остатков по методу R.L. Levin в модификации Е.Е. Дубининой. Индуцированную ОМБ стимулировали реактивом Фентона. Продукты реакции регистрировали спектрофотометрически при λ 370 нм.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0, используя критерии Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ результатов проведенного исследования показал, что у больных с коротким сроком ремиссии показатель светосуммы хемилюминесценции плазмы крови в среднем был в 2,9 раз выше, чем в группе здоровых женщин (табл. 1).

Таблица 1

Состояние свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы в плазме крови больных 3 клинической группы с разной длительностью ремиссии

Группы	Светосумма ХЛ плазмы крови, имп./6 с	Каталаза, мкМ H_2O_2 /мин.	Активность церулоплазмينا, мкМ/л	Содержание церулоплазмينا, г/л
Контрольная группа n=30	$3950,4 \pm 375,2$	$34,76 \pm 2,35$	$1,326 \pm 0,067$	$0,295 \pm 0,023$
Короткий срок ремиссии n=22	$11394,6 \pm 1206,2$ $P_1 < 0,001$	$38,6 \pm 4,0$	$1,929 \pm 0,214$ $P_1 < 0,05$	$0,443 \pm 0,043$ $P_1 < 0,01$
Длительная ремиссия n=24	$5812,5 \pm 603,4$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$	$52,31 \pm 4,9$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,05$	$1,348 \pm 0,129$ $P_2 < 0,05$	$0,301 \pm 0,025$ $P_2 < 0,01$

Примечание. Достоверность различий между группами: p_1 – по сравнению с контрольной группой, p_2 – по сравнению с группой с коротким сроком ремиссии.

В группе больных с длительной ремиссией интенсивность хемилюминесценции колебалась в пределах 2800-8100 имп./6 сек. и была в среднем на 47% выше, чем в группе здоровых женщин, и на 49% ниже, чем в группе больных с коротким сроком ремиссии ($p < 0,001$).

Активность каталазы в плазме крови в группах также была различной: у больных с длительной ремиссией фермент был более активным – на 35% по сравнению с уровнем в группе больных с небольшой длительностью ремиссии и на 50% активнее, чем в контрольной группе ($p < 0,05$ – $p < 0,001$).

Содержание церулоплазмينا в плазме крови и его оксидазная активность у больных с небольшой длительностью ремиссии были увеличены в среднем на 50% по сравнению с уровнем у здоровых женщин, у больных с длительной ремиссией эти показатели были ниже, чем у больных с краткосрочной ремиссией, в среднем на 30% ($p < 0,05$ – $p < 0,01$), снижаясь до уровня средних значений доноров. Анализ динамики данных показателей у нескольких больных, у которых состояние ремиссии, длившееся от 6 месяцев до 1,5 лет, сменялось развитием рецидива, выявил аналогичную картину: в состоянии ремиссии у 3 больных

из 4 оксидазная активность и содержание церулоплазмينا были выше, чем в последующем в момент выявления рецидива. У больных с длительным сроком ремиссии (11-23 года) на протяжении всего срока мониторинга данные показатели были стабильно на уровне значений у здоровых женщин.

В связи с большей интенсивностью свободнорадикальных процессов в плазме крови и с меньшей активностью каталазы у больных с небольшим сроком ремиссии более активно протекали процессы перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует уровень МДА (табл. 2): он был на 42% выше, чем в группе с длительной ремиссией, и на 167% выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$ – $p < 0,001$).

В этой же группе более активно протекали и процессы окисления белков плазмы. Это проявлялось в более высоком значении показателя спонтанной ОМБ (370 нм): у больных с коротким сроком ремиссии он был на 54% выше, чем у здоровых женщин ($p < 0,01$). У больных с длительной ремиссией данный показатель был на 42% ниже, чем в группе больных с коротким сроком ремиссии ($p < 0,001$). При этом в данной группе больных показатель металлкатализируемой ОМБ (370 нм) был самым низким: на 26% ниже по сравнению с уровнем в группе с коротким сроком ремиссии и на 35% ниже по сравнению с уровнем в контрольной группе ($p < 0,05$ – $p < 0,01$).

Таблица 2

Содержание МДА и интенсивность окислительной модификации белков в плазме крови больных 3 клинической группы с разной длительностью ремиссии

Группы	МДА, нМ/мл плазмы	ОМБ 370 нм спонт., мкМ/мг белка	ОМБ 370 нм инд., мкМ/мг белка
Контрольная группа n=30	290,8±27,3	23,58±2,39	1080,0±95,1
Короткий срок ремиссии n=22	676,7±78,1 $P_1 < 0,001$	36,2±2,97 $P_1 < 0,01$	950,8±81,3
Длительная ремиссия n=24	450,1±43,3 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,05$	20,91±1,89 $P_2 < 0,001$	698,6±57,9 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,05$

Примечание. Достоверность различий между группами: p_1 – по сравнению с контрольной группой, p_2 – по сравнению с группой с коротким сроком ремиссии.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у больных раком вульвы в период от четырех месяцев до трех лет после окончания комплексного лечения не происходит нормализации состояния свободнорадикальных процессов в крови. Причиной могут являться различные факторы и биологические процессы, связанные как с системным влиянием опухоли на организм, так и с агрессивными методами терапии онкологических больных: преимущественная продукция провоспалительных цитокинов, усиление гипоксии в процессе опухолевой прогрессии, продукты катаболизма, продукты биотрансформации химиотерапевтических средств, токсемия и пр. [1, 4, 7]. Интенсификация окислительных процессов способствует нарастающий дисбаланс в функционировании антиоксидантной защитной системы крови, представленной ферментативными и неферментативными компонентами. Обращает на себя внимание увеличение содержания церулоплазмينا в крови, свидетельствующее об активации метаболизма меди и железа

у больных с небольшой длительностью ремиссии, что в дальнейшем может приводить к развитию рецидива. У больных с длительной ремиссией процессы генерации свободных радикалов компенсируются изменением активности антиоксидантной системы крови, в частности повышением активности каталазы, что приводит к снижению содержания продуктов окисления липидов и белков. В работах [8, 9] выявлена сильная обратная корреляция между накоплением карбонильных групп в белках и активностью каталазы, что, возможно, является компенсаторным механизмом защиты белковых молекул от окисления. В нашей работе выявлено снижение количества продуктов ОМБ и увеличение активности каталазы в группе больных с длительной ремиссией. Но при этом непонятным является уменьшение уровня карбонильных производных белков при металлкатализируемом окислении белков.

Уровень металлкатализируемой ОМБ рассматривается как величина, обусловленная наличием легко окисляемых групп

в аминокислотных остатках и наличием сайтов связывания ионов металлов переменной валентности на поверхности белковых молекул [3, 10], поэтому по уровню металлкатализируемой ОМБ можно судить о количестве субстрата окисления (доступных легко окисляемых групп) и возможности его вовлечения в этот процесс (доступных сайтов связывания ионов металлов). Более низкое значение показателя металлкатализируемого ОМБ в группе больных с длительным сроком ремиссии, возможно, свидетельствует о конформационных изменениях белковых молекул, что способствует меньшей окисляемости белков.

Заключение

Проведенный анализ полученных данных позволил нам заключить, что у больных раком вульвы, находящихся в длительной ремиссии, отмечалось уменьшение активности окислительных процессов, частично за счет компенсаторного увеличения активности ферментативного звена антиоксидантной системы – каталазы, снижение уровня продуктов перекисидации липидов и белков, переход системы крови «свободнорадикальное окисление – антиоксидантная защита» на новый стационарный уровень, для которого характерно восстановление баланса между активностью окислительных процессов и антиоксидантной системы крови. А для больных раком вульвы с коротким сроком ремиссии (до 3 лет) было характерным состояние значительной активации окислительных процессов в плазме крови, проявившееся усилением генерации свободных

радикалов, увеличением уровня продуктов липопероксидации (МДА) и окислительной модификации белков (спонтанная ОМБ при 370 нм), что в дальнейшем, по всей видимости, создает условия для развития рецидива заболевания.

Список литературы

1. Антонеева И.И. Обоснование и совершенствование диагностики прогрессирующего рака яичников: Автореф. дисс. докт. мед. наук. – Уфа, 2009. – 49 с.
2. Ашрафян Л.А., Харченко Н.В., Киселев В.И., Свешников П.Г. Рак вульвы: этиопатогенетическая концепция. – М.: Практическая медицина, 2006. – 192 с.
3. Лушчак В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него у бактерий. Обзор // Биохимия. – 2001. – Т.66. – Вып.5. – С. 592-609.
4. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – М.: АРТА, 2008. – 284 с.
5. Неродо Г.А., Иванова В.А., Неродо Е.А. Сроки возникновения рецидивов рака вульвы и их прогностические факторы // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1. URL: www.science-education.ru/107-8442 (дата обращения: 14.02.2014).
6. Турчак А.В. Рецидивы рака вульвы и результаты их терапии (20-летний опыт) // Онкология. – 2009. – Т.11. – № 4. – С.312-313.
7. Barrera G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy // ISRN Oncology. – 2012. Article ID 137289, 21 pages.
8. Bagnyukova T.V., Vasyukiv O.Y., Storey K.B., Lushchak V.I. Catalase inhibition by amino triazole induces oxidative stress in goldfish brain // Brain Research. – 2005. – Vol. 1052. – N. 2. – P. 180-186.
9. Lushchak V.I., Gospodaryov D.V. Catalases protect cellular proteins from oxidative modification in *Saccharomyces cerevisiae* // Cell Biol. Int. – 2005. – Vol. 29. – N 3. – P. 187-192.
10. Stadman E.R. Metal ion – catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences // Free Rad. Biol. Med. – 1990. – V.9. – P.315-325.