

УДК 577.1:612.1:618.11-006.6-036.37

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ И СОДЕРЖАНИЕ ГАПТОГЛОБИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ С РАЗЛИЧНОЙ ВАСКУЛЯРИЗАЦИЕЙ ЛОКАЛЬНОЙ РЕЦИДИВНОЙ ОПУХОЛИ

Сурикова Е.И., Сергеева М.М., Горошинская И.А., Максимова Н.А., Шалашная Е.В.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия (344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63), e-mail: onko-secretar@mail.ru

При ультразвуковом мониторинге больных раком яичников после комбинированного лечения оценивали параметры внутриопухолевой гемодинамики локального рецидива, состояние антиоксидантной системы эритроцитов периферической крови и содержание в плазме крови белка острой фазы гаптоглобина. При прогрессировании опухолевой болезни и усилении васкуляризации рецидивной опухоли обнаружены достоверные изменения в активности ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, увеличение содержания продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида в эритроцитах крови. Установлены достоверные отличия активности глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы эритроцитов у больных раком яичников с различным типом кровотока в рецидивной опухоли. Обнаружено увеличение содержания гаптоглобина в плазме крови больных раком яичников с различной васкуляризацией рецидивной опухоли.

Ключевые слова: эритроцит, антиоксидантная система, гаптоглобин, васкуляризация, локальные рецидивы рака яичников.

STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF ERYTHROCYTES AND BLOOD CONCENTRATION OF HAPTOGLOBIN IN OVARIAN CANCER PATIENTS WITH VARIOUS VASCULARIZATION OF LOCAL RECURRENT TUMOUR

Surikova E.I., Sergeeva M.M., Goroshinskaja I.A., Maximova N.A., Shalashnaja E.V.

Federal State Budget Institution "Rostov Research Oncologic Institute" Ministry of Health and Social Development of Russia, Rostov-on-Don, Russia, (344037, Rostov-on-Don, 14 line, 63), e-mail: onko-secretar@mail.ru

Parameters of intratumour hemodynamics of local relapse, state of antioxidant system of erythrocytes of peripheral blood and blood plasma concentration of protein of acute phase of haptoglobin were studied by means of ultrasonic monitoring of ovarian cancer patients performed after combined treatment. Significant changes in activity of enzymes of superoxide dismutase, catalase, glutathione-peroxidase, as well as increase in concentration of product of lipid peroxidation of malonic dialdehyde in blood erythrocytes were observed at progression of the disease and increase of recurrent tumour vascularization. Significant differences in activity of glutathione-reductase, glutathione-transferase of erythrocytes in ovarian cancer patients with various types of blood flow in recurrent tumour were observed. Increase of haptoglobin concentration in blood plasma of patients having ovarian cancer with various vascularization of recurrent tumour were revealed.

Key words: erythrocyte, antioxidant system, haptoglobin, vascularization, local recurrences of ovarian cancer.

Рак яичников (РЯ) в начале XXI века остается актуальной проблемой здравоохранения. Заболеваемость и смертность от него имеют тенденцию к увеличению. По показателям смертности РЯ опережает рак тела и шейки матки, занимая 5-е место среди причин смертности от всех опухолей у женщин [3]. На фоне проводимого лечения РЯ остается опухолью, склонной к рецидивированию в 20–30% случаев. Несмотря на проводимую адъювантную терапию, даже при I–II стадиях РЯ 25–30% больных погибают в дальнейшем от прогрессирования опухолевого процесса [2].

Исследованиями последних десятилетий установлено, что прогрессирование онкологического процесса сопровождается усилением процессов свободнорадикального окисления и истощением антиоксидантных резервов организма [1]. Важные изменения происходят в крови, являющейся ключевой гомеостатической системой организма, связывающей отдельные физиологические системы в единое целое. Растущая в организме опухоль оказывает влияние на организм через синтезируемые ею регуляторные факторы, в ответ на которые в организме усиливаются процессы синтеза различных соединений, в частности белков острой фазы. Содержание соединений этой группы неспецифически увеличивается при неоплазии. Показано повышение содержания, в частности, гаптоглобина при злокачественных новообразованиях молочной железы, желудочно-кишечного тракта, гениталий, легкого [6; 7]. О биологических функциях, выполняемых этими белками при развитии в организме опухолевого очага, недостаточно известно. Установлено, что гаптоглобин, функция которого заключается в связывании свободного гемоглобина при гемолизе эритроцитов и предотвращении потери железа, вовлечен также в трансформацию эпидермальных клеток, иммуносупрессию опухолевых клеток и ангиогенез [5; 10].

В связи со всем вышесказанным целью нашей работы явилось изучение процессов свободнорадикального окисления в эритроцитах крови и содержания в плазме крови гаптоглобина у больных раком яичников с различной васкуляризацией рецидивной опухоли.

Материалы и методы

В клинике ФГБУ «РНИОИ» МЗСР России с 2009 по 2011 г. были обследованы 42 больные РЯ (45–75 лет), перенесшие комбинированное лечение. У всех больных была достигнута клиническая ремиссия. Стадию болезни устанавливали на основании данных клинического обследования, результатов оперативного вмешательства и гистологической структуры опухоли. Для диагностики рецидивов РЯ использовали ультразвуковой сканер IU 22 PHILIPS, оснащенный трансабдоминальным и трансвагинальным датчиками, работающими в режиме реального масштаба и времени. С помощью цветового доплеровского и энергетического картирования в стандартных режимах настройки аппарата и разработанной нами методики определения внутриопухолевых параметров артериального кровотока по максимальным артериальным скоростям оценивали интенсивность васкуляризации в рецидивных опухолях в контрольном доплеровском объеме (гиперваскулярный, изоваскулярный, гиповаскулярный, аваскулярный кровоток).

11 женщин составили группу без рецидива – группа I. У 31 женщины на момент обследования был обнаружен локальный рецидив в полости малого таза. По результатам УЗ-мониторинга среди этих больных были выделены две группы: 10 женщин, рецидивная

опухоль у которых характеризовалась аваскулярным типом кровотока – группа II, 21 женщина, рецидивная опухоль у которых характеризовалась гиперинтенсивным кровотоком – группа III. 19 практически здоровых женщин-доноров составили контрольную группу.

Для оценки состояния процессов свободнорадикального окисления в эритроцитах крови больных РЯ исследовали активность ферментов СОД, каталазы, глутатионзависимых ферментов, содержание глутатиона, малонового диальдегида (МДА) общепринятыми спектрофотометрическими методами. Кроме того, в плазме крови определяли содержание белка острой фазы гаптоглобина иммунотурбидиметрическим методом на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 (Roche). Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistika 6.0, используя параметрический t-критерий Стьюдента для оценки достоверности различий средних двух независимых выборок. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$, или имеющими тенденцию к достоверности при $0,1 > p > 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования выявлены достоверные изменения состояния свободнорадикальных процессов в эритроцитах больных РЯ (таблица 1).

Отмечается нарастание содержания МДА по мере усиления васкуляризации локального рецидива – в группе III уровень МДА достоверно увеличен на 44,9% по сравнению с уровнем контрольной группы.

Активность СОД у больных РЯ была достоверно ниже, чем в контрольной группе. Наиболее выраженное снижение активности отмечалось у больных группы I – на 25%, у больных группы III активность данного фермента не отличалась от значения в контрольной группе, но при этом была достоверно выше на 28,2% по сравнению со значением в группе I. Активность каталазы во всех группах больных РЯ была достоверно снижена по сравнению с уровнем доноров на 14,1–28,6%. При этом в разных группах данный показатель достоверно не различался.

В отличие от каталазы активность глутатионпероксидазы (ГПО) во всех группах больных РЯ была достоверно выше, чем в контрольной группе, в среднем в 2,2 раза. При этом достоверных отличий активности данного фермента между исследуемыми группами больных также обнаружено не было.

Активность глутатионтрансферазы (ГТ) в группе больных без рецидива (группа I) была достоверно выше уровня доноров на 16,2%. В группе II происходит достоверное снижение активности данного фермента на 10% по сравнению с группой I, а в группе III активность ГТ достоверно возрастает на 13,6% по сравнению с группой II. Похожие

изменения мы наблюдали в работе фермента глутатионредуктазы (ГР). Активность ГР у больных без рецидива не отличалась от уровня доноров, в группе II была на 32,8% ниже, чем в контрольной группе. В группе III активность этого фермента возрастала на 31,6%, достигая донорских значений.

Коэффициенты СОД/Каталаза и СОД/ГПО, характеризующие сбалансированность работы этих ферментов, имели разнонаправленную динамику. Коэффициент СОД/Каталаза возрастал и был максимально повышен в группе III – на 45,4% по сравнению с группой доноров и на 35,5% по сравнению со значением в группе I. Коэффициент СОД/ГПО во всех группах больных был снижен по сравнению с группой доноров на 61,6–67,9%. Значения коэффициента СОД/ГПО между группами больных РЯ достоверно не отличались.

Результаты показали, что при появлении локального рецидива и усилении его васкуляризации в эритроцитах крови происходит, на наш взгляд, компенсаторное увеличение активности СОД, изначально сниженной у больных РЯ в ремиссии. Это косвенно указывает на усиление образования в эритроцитах супероксидного радикала. Увеличение значения коэффициента СОД/Каталаза в группе больных РЯ с гиперинтенсивным кровотоком в локальном рецидиве свидетельствует о наличии дисбаланса в работе этих ферментов и возможном нарастании концентрации H_2O_2 в эритроцитах. Значительное увеличение активности ГПО во всех группах больных РЯ независимо от наличия или отсутствия рецидивной опухоли и состояния кровотока в ней и значительное снижение коэффициента СОД/ГПО по сравнению с уровнем у доноров также свидетельствуют об увеличении скорости образования H_2O_2 в эритроцитах, функцию разложения которой, по-видимому, начинает компенсаторно выполнять ГПО. По мере усиления васкуляризации рецидивной опухоли отмечается усиление активности других глутатионзависимых ферментов – волнообразное незначительно выраженное, хотя и достоверное изменение активности ГТ и более выраженное изменение активности ГР эритроцитов в группах больных с аваскулярным рецидивом и с гиперинтенсивным кровотоком в рецидивной опухоли. Возрастание уровня МДА (продукта ПОЛ) свидетельствует об усилении наработки и ослаблении инактивации свободных радикалов в эритроцитах, т.е. об усилении перекисных процессов. Результатом может явиться усиление гипоксического состояния организма, что может способствовать проявлению «дремлющих» трансформированных очагов, требующих усиления васкуляризации.

Исследование содержания гаптоглобина в крови больных РЯ показало, что у всех больных его уровень был достоверно выше, чем у доноров: в группах I и II в среднем на 53,4%, в группе III на 133,6%. При этом содержание гаптоглобина в крови у больных с локальным аваскулярным рецидивом достоверно не отличалось от значения в группе

больных без рецидива. Уровень данного белка у больных в группе с гиперинтенсивным кровотоком в рецидивной опухоли был достоверно выше на 56,2% по сравнению со значением в группе без рецидива и имел тенденцию к достоверному повышению на 48,7% по сравнению со значением в группе с аваскулярным рецидивом. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы об увеличении содержания гаптоглобина при прогрессировании опухолевого процесса [4; 8; 9]. О биологическом значении этого явления в настоящее время известно немного. Опираясь на некоторые данные литературы [5; 10], можно предположить, что описанные нами изменения уровня гаптоглобина подтверждают возможность его участия в процессах неоангиогенеза и усиления васкуляризации рецидивной опухоли.

Выводы

1. Наблюдается усиление перекисных процессов в эритроцитах крови больных РЯ при появлении рецидивной опухоли и развитии ее васкуляризации, о чем свидетельствует повышение уровня МДА, несмотря на компенсаторно повышенную активность некоторых антиоксидантных ферментов.
2. При прогрессировании заболевания и усилении васкуляризации рецидивной опухоли содержание в плазме крови больных РЯ гаптоглобина увеличивается, что позволяет предположить возможность участия этого белка в процессах ангиогенеза.

Таблица 1 – Показатели состояния свободнорадикальных процессов крови и содержание гаптоглобина в плазме крови больных раком яичников

Группы	Глутатион, мкМ/мгНв	ГТ, МЕ/мг Нв	ГР, МЕ/мг Нв	ГПО, МЕ/мг Нв	СОД, Ед. актив./мг Нв	Каталаза, мкМ H ₂ O ₂ /мин.× мг Нв	СОД/Каталаза	СОД/ГПО	МДА, нМ/мл 1% гемолизата	Гаптоглобин, г/л
Контроль- ная n=19	29,02±1,07	56,23±1,18	8,06±0,32	204,29±14,41	507,35±18,85	128,22±3,82	3,96±0,1	2,90±0,21	689,2±68,4	1,19±0,10
Группа I n=11	34,30±1,79	65,35±1,62 P _к <0,05	6,43±0,79 P _к <0,05	452,79±25,56 P _к <0,05	380,45±24,95 P _к <0,05	110,10±9,15 P _к <0,05	4,25±0,60	0,93±0,096 P _к <0,05	882,4±114,8	1,78±0,22 P _к <0,05
Группа II n=10	31,81±1,82	58,81±1,43 P _I <0,05	5,41±0,44 P _к <0,05	458,19±35,40 P _к <0,05	422,82±16,60 P _к <0,05	92,80±8,10 P _к <0,05	4,88±0,43 P _к <0,05	0,983±0,075 P _к <0,05	919,8±125,3	1,87±0,10 P _к <0,05
Группа III n=21	32,07±1,16	66,81±1,59 P _к <0,05 P _{II} <0,05	7,12±0,34 P _{II} <0,05	452,78±21,77 P _к <0,05	487,68±29,08 P _I <0,05	91,61±3,54 P _к <0,05	5,76±0,43 P _к <0,05 0,1>p _I >0,05	1,11±0,087 P _к <0,05	998,8±88,0 P _к <0,05	2,78±0,32 P _к <0,05 P _I <0,05 0,1>p _{II} >0,05

Достоверность отличий между группами: p_к – по сравнению с контрольной, p_I – по сравнению с группой I, p_{II} – по сравнению с группой II.

Список литературы

1. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях // Клин. лаб. диагн. – 2010. – № 6. – С. 28–44.
2. Жордина К.И. Злокачественные новообразования яичников. Энциклопедия клинической онкологии. – М. : РОНЦ им. Н.И. Блохина РАМН, 2004. – С. 45–71.
3. Сергеева Н.С., Ермошина Н.В., Мишунина М.П. [и др.]. Использование опухолеассоциированных маркеров для диагностики и контроля за эффективностью терапии у больных с распространенным раком яичников : пособие для врачей. – М., 2005. – С. 3–8.
4. Таранец И.Н. Диагностическое значение сывороточных белков для ранней диагностики рака яичников : автореф. дисс. канд. биол. наук. – М., 2005. – 27 с.
5. Эль-Бустани Сана. Диагностическое и прогностическое значение маркеров неоангиогенеза у больных ишемической болезнью сердца : автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2010. – 25 с.
6. An J.Y., Fan Z.M., Zhuang Z.H. et al. Proteomic analysis of blood level of proteins before and after operation in patients with esophageal squamous cell carcinoma at high incidence area in Henan Province // World J. Gastroenterol. – 2004. – N. 10. – P. 3365–3368.
7. Awadallah S.M., Atoum M.F. Haptoglobin polymorphism in breast cancer patients from Jordan // Clin. Chim. Acta. – 2004. – V. 341. – N. 1–2. – P. 17–21.
8. Brandon J.D., Sajal Gupta, Rima Dada et al. Potential Markers for Detection and Monitoring of Ovarian Cancer // J. Oncol. – 2011. – N. 5. – P. 698–711.
9. Changqin Z., Loganath A., Changfa G. et al. Circulating haptoglobin is an independent prognostic factor in the sera of patients with epithelial ovarian cancer // Neoplasia. – 2007. – V. 9. – N. 1. – P. 1–7.
10. Moreno P.R., Purushothaman K.R., O'Connor W.N. et al. Increased inflammation and neovascularization in diabetes atherosclerosis is no longer present in fibrocalcific plaques: a marker of stabilization? // J. Am. Coll. Cardiol. – 2005. – V. 45. – N. 2. – P. 402–405.

Рецензенты:

Кательницкий И.И., д.м.н., проф., зав. кафедрой хирургических болезней № 1 Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.

Домбровский В.И., д.м.н., зав. кафедрой лучевой диагностики № 2 ФПК и ППС Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.