

## ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И СОСТОЯНИЯ КОАГУЛЯЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ КАК ОБЪЕКТИВНЫЕ КРИТЕРИИ ИНИЦИАЦИИ МАЛИГНИЗАЦИИ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ

<sup>1</sup>Чеснокова Н.П., <sup>1,2</sup>Барсуков В.Ю., <sup>1</sup>Агабеков А.И., Бизенкова М.Н.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Саратовский Государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия (410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112), e-mail: Dr.albert.agabekov@yandex.ru;

<sup>2</sup>НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД», Саратов

В данной работе изучены характер нарушений коагуляционного потенциала и цитокинового профиля крови, их связь с эндотелиальной дисфункцией. Для оценки эндотелиальной дисфункции проведено определение содержания в крови E, P-селектинов, молекул клеточной адгезии (SICAM) с использованием иммуноферментного анализа. Для оценки коагуляционного потенциала крови произведен анализ коагулограммы по показателям – МНО, протромбинового индекса, АЧТВ-тест, тромбинового времени, содержания фибриногена с использованием фотометрического метода. О нарушении цитокинового профиля крови судили по изменению содержания в крови интерлейкина -1 (IL-1) и фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ). Исследование проведено у 60 пациентов на локальных (T1–2NoMo) и местно-распространенных (T3-4(a,b) NoMo, T3-4(a,b)N1-2Mo) стадиях рака восходящего отдела ободочной кишки, находившихся на лечении в клинике хирургии и онкологии ФПК и ППС на базе НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД» за период с 2012 по 2015 гг. Как оказалось, на локальных стадиях указанной онкопатологии выявлялись гиперкоагуляционные сдвиги, обусловленные активацией внешнего механизма формирования протромбиназной активности и увеличением содержания в крови фибриногена, при этом показатель внутреннего механизма формирования протромбиназы (АЧТВ-тест) не изменялся. Одновременно происходило и нарастание содержания в крови провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1. Местно-распространенные стадии характеризовались более выраженным нарастанием показателей эндотелиальной дисфункции, а также IL-1 и TNF- $\alpha$ . Фаза гиперкоагуляции у данного контингента больных сменялась коагуляционными расстройствами в виде уменьшения протромбинового индекса, увеличения тромбинового времени и уменьшения уровня фибриногена.

Ключевые слова: аденокарцинома, эндотелиальная дисфункция, коагуляционный потенциал крови.

## INDICES OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND OF THE STATE OF THE BLOOD COAGULABILITY POTENTIAL AS OBJECTIVE CRITERIA OF THE INITIATION OF CELLS' MALIGNISATION IN COLON CANCER

Chesnokova N.P.<sup>1</sup>, Barsukov V.Y.<sup>1,2</sup>, Agabekov A.I.<sup>1</sup>, Bizenkova M.N.

<sup>1</sup>V.I. Razumovsky Saratov State Medical University of Russian Minzdrav State Government-Funded Educational Institution of Higher Professional Education in Saratov, Russia (112 Bolshaya Kazachya Str., the city of Saratov 410012) e-mail: Dr.albert.agabekov@yandex.ru;

<sup>2</sup>Railway Clinical Hospital at the Saratov-II Station of the RZhd OAO (Open Joint-Stock Company) Non-Government Healthcare Institution, Saratov

The present work has investigated the character of disorders of the coagulability potential and of the blood cytokine profile and these disorders' connection with endothelial dysfunction. In order to estimate the endothelial dysfunction, the levels of E- and P-selectins, of the cell adhesion molecules (SICAM) in blood were determined while using enzyme immunoassay. In order to estimate the blood coagulability potential, coagulogram was analysed with regard to these indices: international normalised ratio, prothrombin index, activated partial thromboplastin time test, thrombin time, fibrinogen level while using photometric method. The disorder of the blood cytokine profile was judged by the changes in the levels of the blood interleukin-1 (IL-1) and by the tumor necrosis alpha-factor (TNF- $\alpha$ ). The study covered 60 patients in the local (T1-2NoMo) and locally advanced T3-4(a,b)NoMo, T3-4(a,b)N1-2Mo cancer stages in the ascending colon. The patients were being treated at the Surgery & Oncology Clinic of the Advanced Training & Specialists' Professional Retraining Faculty in the Non-State Healthcare Institution "Railway Clinical Hospital at the Saratov II Railway Station", OJSC "Russian Railways" from 2012 till 2015. It turned out that the local stages of the aforesaid cancer pathology revealed hypercoagulability shifts conditioned by the activation of the external mechanism of forming prothrombinase activity and by the increase of the blood fibrinogen level whereas the inner mechanism index of prothrombinase forming (activated partial thromboplastin time test) did not change. The levels of the anti-

**inflammatory blood cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 increased at the same time. The locally advanced stages were characterised by more pronounced increase of the endothelial dysfunction indices as well as of TNF- $\alpha$  and IL-1. The hypercoagulability phase was replaced by coagulability disorders in the form of decrease of the prothrombin ratio, of increase of the thrombin time, and of the decrease of the fibrinogen level in this group of patients.**

---

Keywords: adenocarcinoma, endothelial dysfunction, blood coagulability potential.

В различных странах мира, в том числе и в России, рак ободочной кишки является одним из наиболее частых заболеваний онкологической природы. Так, по данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируется около 800 тысяч новых случаев заболевания колоректальным раком, и в Российской Федерации диагностируют около 57 тыс. новых случаев выявления указанной патологии. В структуре онкологической заболеваемости, колоректальный рак прочно занимает 2-3е места [6].

К настоящему моменту четко определены молекулярно-клеточные механизмы онкогенной трансформации клеток, развития опухолевой прогрессии при неоплазиях различной локализации, в том числе и при колоректальном раке [1, 4].

Учитывая тот факт, что в процессе онкогенной трансформации клеток различной морфофункциональной организации происходит активация протоонкогенов, обеспечивающих детерминацию факторов роста, их рецепторов или пострецепторных передатчиков, а также блокаторов контактного ингибирования пролиферации [5]. Часть протоонкогенов обеспечивает кодирование блокаторов запрограммированной гибели клеток.

Общие закономерности канцерогенеза находят отражение в молекулярно-клеточных механизмах развития рака толстой кишки (РТК). Так, у 45-50% больных РТК установлено развитие мутаций генов K-ras и N-ras, кодирующих белки-рецепторы различных факторов роста, что приводит к расстройству трансдукционных сигналов с клеточной мембраны в ядро клетки. В развитии РТК важная роль отводится мутации супрессирующего гена p-53, что приводит к потере контроля над процессами пролиферации. В большинстве первичных опухолей РТК (84,5%) выявлена первичная экспрессия В-катенина, что коррелирует с внутрисосудистой инвазией и малигнизированными клетками [2].

Установлено, что инвазия опухолевых клеток при злокачественных новообразованиях толстой кишки в значительной мере определяет активность матриксных металлопротеиназ (ММР-2 и ММР-9), обеспечивающих разрушение внеклеточного матрикса и клеточных базальных мембран.

В связи с вышеизложенным очевидно, что одним из ведущих патогенетических факторов опухолевой прогрессии, приводящих к появлению инвазивных свойств у малигнизированных клеток и развитию метастазирования, является нарушение структуры и функций сосудистой стенки, как в местах первичного формирования опухоли, так и в отдаленных структурах. Указанная точка зрения находит аргументацию в одном из клинических проявлений различных онкологических заболеваний - синдроме Труссо.

Последний, как известно, характеризуется индукцией тромбогенных свойств эндотелия и ослаблением тромборезистентности сосудов при онкологических заболеваниях [3].

До настоящего момента оставались в значительной мере неизученными закономерности системных паранеопластических расстройств при РТК, в частности роль эндотелиальной дисфункции и связанных с ней нарушений коагуляционного потенциала крови в развитии процессов метастазирования опухолевых клеток. Между тем, установление патогенетической взаимосвязи развития эндотелиальной дисфункции и расстройств коагуляционного потенциала крови в динамике аденокарциномы ободочной кишки, позволит в значительной мере расширить диапазон прогностических и диагностических критериев метастазирования опухолевого процесса.

### **Цель исследования**

Установление патогенетической взаимосвязи, а также диагностической и прогностической значимости развития эндотелиальной дисфункции, нарушений тромбоцитарно-сосудистого гемостаза и коагуляционного потенциала крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания.

### **Материал и методы исследования**

В соответствии с поставленной целью проведена комплексная клиничко-лабораторная оценка 60 онкологических больных, находящихся на стационарном лечении в клинике хирургии и онкологии ФПК и ППС ГОУ ВПО Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (на базе НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Саратов II» ОАО «РЖД») в период с 2013 по 2015 гг.

Первая группа наблюдения включала 30 пациентов с локальными (T1–2N0M0) стадиями аденокарциномы ободочной кишки, вторая группа – 30 пациентов с местнораспространенными (T3–4(a,в) N0M0, T3–4(a,в) N1–2M0) стадиями указанной патологии. Группу контроля составили 30 пациентов без клинически выраженных проявлений какой-либо патологии. Группы исключения составили пациенты с сопутствующими или предшествующими онкологическими и аллергическими заболеваниями, эндокринопатиями, декомпенсированными формами висцеральной патологии.

Рандомизация групп обеспечивалась на основе традиционного комплекса клиничко-лабораторного обследования онкологических больных, включающего: осмотр, пальпацию, ультразвуковое исследование брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, ирригоскопию, колоноскопию, цитологическое исследование.

У наблюдаемого контингента больных на различных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки исследовали показатели коагулограммы (МНО,

протромбиновый индекс, АЧТВ-тест, тромбиновое время, фибриноген) с использованием фотометрического метода на аппарате «Autoclot». Содержание в крови Р-селектинов, Е-селектинов, молекул клеточной адгезии (SICAM) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе МД-6000. Уровень провоспалительных цитокинов в крови IL 1, TNF альфа определяли на иммуноферментном анализаторе «СтатФакс» (Москва), с использованием иммуноферментных тест систем, основанных на «сэндвич» - варианте твердофазного иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с инструкцией фирмы производителя ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Все исследования проводились однократно в момент поступления больного в стационар, до проведения какой-либо терапии.

Степень распространенности неоплазии оценивали в соответствии с последней классификацией TNM [7]

Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием 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

Как оказалось, уже на начальных (локальных T1–2N0M0) стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки отмечалось резкое повышение содержания в крови Р, Е-лектинов и молекул клеточной адгезии (SICAM) (табл. 1). Касаясь изменений цитокинового профиля крови, следует отметить увеличение содержания TNF- $\alpha$  и ИЛ-1. Параллельно отмечались гиперкоагуляционные сдвиги в коагулограмме- увеличивалось тромбиновое время и уровень содержания фибриногена (табл. 2).

**Таблица 1**

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки					
			Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)			Местно-распространенные стадии заболевания (T3–4(a,b) N0M0, T3–4(a,b)N1–2M0)		
	n	M $\pm$ m	N	M $\pm$ m	P	N	M $\pm$ m	P
МНО (0.85-1,25)	30	1,19 $\pm$ 0,81	30	1.15 $\pm$ 0.52	P>0,05	30	0.74 $\pm$ 0.87	P>0,05 P1>0,05
Протромбиновый индекс (90-105%)	30	100,6 $\pm$ 0.75	30	115,6 $\pm$ 3,34	P<0,05	30	88,3 $\pm$ 1.37	P<0,001 P1<0,001
АЧТВ-тест	30	28.6 $\pm$ 0,70	30	27,9 $\pm$ 0,74	P>0,05	30	27,5 $\pm$ 0,71	P>0,05

(25-35 сек.)								P1>0,05
Тромбиновое время (15-17 сек)	30	15,43±0,15	30	16,17±0,21	P>0,05	30	18,08±0,14	P<0,001 P1<0,001
Фибриноген (2-4 г/л)	30	3,06±0,16	30	5,23±0,17	P1<0,05	30	1,67±0,12	P<0,001 P1<0,001
Тромбоциты (*10 <sup>9</sup> /л)	30	265,6±10,22	30	251,4±10,09	P>0,05	30	181,5±8,11	P<0,001 P1<0,001
TNF-α (пг/мл)	30	12,5±0,61	30	16,7±0,79	P<0,001	30	18,4±0,71	P<0,001 P1<0,05
IL-1 (пг/мл)	30	17,7±0,75	30	20,9±0,87	P<0,05	30	23,2±1,02	P<0,001 P1>0,05

Примечание

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.

Метно-распространенные стадии (T3-4(а,в) N0M0, T3-4(а,в)N1-2M0) аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки характеризовались усугублением нарушения структуры эндотелия, о чем свидетельствовало еще большее увеличение содержания адгезивных молекул – P, E-селектинов в крови а также SICAM. Указанные нарушения коррелировали с прогрессирующим увеличением содержания в крови IL-1 а также TNF-α. Фаза гиперкоагуляции у данного контингента больных сменялась гипокоагуляционными расстройствами проявляющимися уменьшением протромбинового индекса, увеличением тромбинового времени и уменьшения уровня фибриногена.

**Таблица 2**

**Показатели содержания в крови адгезивных молекул эндотелия у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки**

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
P-селектин 36-262 (нг/мл)	30	203,4±7,97	30	214,7±3,34	P>0,05	30	293,5±13,4	P<0,001 P1<0,001
E-селектин	30	41,9±1,9	30	64,6±2,6	P<0,001	30	219,4±5,3	P<0,001

1-75 (нг/мл)								P1<0,001
SICAM 130-400 (нг/мл)	30	316,8±4,3	30	414,5±9,5	P<0,001	30	438,5±6,3	P<0,001 P1<0,001

Примечание

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.

### Выводы:

- 1) Впервые у пациентов с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки проведена комплексная клиничко-лабораторная оценка ряда интегративных показателей коагуляционного потенциала крови, уровня адгезивных молекул в крови, ряда цитокинов, позволившая установить их патогенетическую взаимосвязь.
- 2) Развитие гиперкоагуляционных сдвигов у больных раком восходящего отдела ободочной кишки на локальных стадиях (T1–2N0M0) сочеталось с увеличением содержания в крови адгезивных молекул (P, E-селектинов, SICAM) а также повышенным содержанием в крови уровня провоспалительных цитокинов (И1, TNF-α).
- 3) Развитие начальных этапов метастазирования при местно-распространенных (T3-4(a,в) N0M0, T3–4(a,в)N1-2M0) стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки формировалось на фоне прогрессирующей эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствовало дальнейшее возрастание уровня P, E-селектинов, SICAM в крови, обнаруживающей параллелизм с гипокоагуляционными сдвигами и дальнейшим возрастанием уровня провоспалительных цитокинов.

### Список литературы

1. Абелев, Г. И. На пути к пониманию природы рака. Обзор. / Г. И. Абелев, Т. Л. Эрайзер // Биохимия. – 2008.- Т. 73. - №5. – С. 605-618.
2. Барсуков Ю.А., Черкес В.Л., Алиев В.А. Значение молекулярно-биологических маркеров рака толстой кишки для диагностики, выбора метода лечения и прогноза // Вестник Московского Онкологического Общества. – 2008.- №10.- С. 2-7.
3. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Основы общей патологии. Часть 1. Основы общей патофизиологии. (Учебное пособие для студентов медВУЗов). -СПб.. 1999.-ЭЛБИ, 624 с.

4. Канцерогенез: патофизиологические и клинические аспекты / Под общей ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова.- Саратов: Изд-во: СГМУ, 2011, 600 с.
5. Копнин, Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного роста / Б.П. Копнин // Материалы онкологического конгресса. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2006-С. 99-102.
6. Состояние онкологической помощи населению России в 2008 г. / Под ред. В. И. Чиссова, В.В Старинского, Г.В. Петровой. - М., 2009.-190 с.
7. 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.

**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.