

УДК 618.146-006.6-033.2:612.015

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ С МЕТАСТАЗАМИ И БЕЗ МЕТАСТАЗОВ

Неродо Г.А., Горошинская И.А., Калабанова Е.А., Качесова П.С.

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

Проведено сравнительное изучение содержания продуктов общей окислительной модификации белков и липидов плазмы крови, а также хемилюминисценции плазмы больных раком шейки матки с метастазами и в состоянии ремиссии после проведенного лечения (комбинированного, комплексного или химиолучевого). Результаты изучения свободнорадикальных процессов у больных раком шейки матки свидетельствуют об усилении перекисидации липидов и спонтанного окисления белков плазмы крови при прогрессировании опухолевого процесса.

Ключевые слова: рак шейки матки, метастазы, свободнорадикальное окисление белков и липидов, хемилюминисценция

COMPARATIVE STUDY OF SOME PARAMETERS OF FREE-RADICAL PROCESSES IN BLOOD PLASMA OF CERVICAL CANCER PATIENTS WITH AND WITHOUT METASTASIS

Nerodo G.A., Goroshinskaya I.A., Kalabanova E.A., Kachesova P.S.

Rostov Research Oncological Institute Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don,
e-mail: rnioi@list.ru

A comparative study of the content of products of total oxidative modification of proteins and blood plasma lipids, as well as plasma chemiluminescence of cervical cancer patients with metastasis and in remission after therapy (combination, complex or chemoradiotherapy) was conducted. Results of the study of free-radical processes in cervical cancer patients imply intensification of lipid peroxidation and spontaneous oxidation of plasma blood proteins under the process of tumor progression.

Keywords: cervical cancer, chemiluminescence, free-radical oxidation of proteins and lipids, metastasis

Рак шейки матки (РШМ) занимает второе место, среди онкологических заболеваний женской половой сферы и составляет 12% в структуре онкогинекологической заболеваемости женского населения России [7]. Известно, что рак шейки матки является одной из основных причин смертности среди больных опухолями женских половых органов [2]. Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении РШМ, основными причинами летального исхода являются появление рецидивов и метастазов. Выживаемость больных составляет 80-95% при отсутствии метастазов и 20-55% при наличии регионарных метастазов [9]. Это обосновывает необходимость дальнейшего изучения факторов, сопровождающих течение заболевания, его прогрессирование и появление метастазов. Согласно современным представлениям, развитие многих патологических процессов связано с усилением свободнорадикальных реакций, приводящих к окислительному повреждению биомолекул. Кроме того, некоторыми исследователями показана прогностическая значимость исходного состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плане оценки распространенности опухо-

левого процесса и результатов химиотерапии [8].

Целью нашего исследования явилось изучение содержания продуктов общей окислительной модификации белков (ОМБ) и липидов плазмы крови больных РШМ с метастазами и без метастазов, а также интенсивность перекись-индуцированной люминолзависимой хемилюминисценции (ХЛ).

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 56 пациенток, больных раком шейки матки IIВ-IV стадии, в возрасте от 29 до 73 лет ($47 \pm 2,6$ лет), ранее прошедших лечение (комплексное, комбинированное либо химиолучевое) в стационаре ФГБУ РНИОИ. Из них у 27 больных на момент исследования были выявлены регионарные и/или отдаленные метастазы (время до выявления метастазов от 6 месяцев до 7 лет), эти больные составили основную группу. Пациентки, находившиеся на момент исследования в состоянии ремиссии, вошли в контрольную группу – 29 человек. Группа доноров состояла из 19 условно здоровых женщин без онкопатологии в возрасте от 27 лет до 61 года ($45 \pm 2,4$ года).

Об интенсивности свободнорадикального окисления белков плазмы крови судили по содержанию их карбонильных производных, выявляемых в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Индуцированную окислительную модификацию белков (ОМБ) стиму-

лировали реактивом Фентона. Продукты реакции – 2,4-динитрофенилгидразоны, регистрировали спектрофотометрически при трёх длинах волны: 270 нм (альдегид-динитрофенилгидразоны нейтрального характера), 370 нм (кетон-динитрофенилгидразоны нейтрального характера), 530 нм (альдегид- и кетон-динитрофенилгидразоны основного характера) [3]. Оценивали содержание вторичного продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА). Статистическую об-

работку данных проводили, используя непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты изучения уровня окисления белков и липидов в плазме крови больных, прошедших лечение по поводу РШМ представлены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание карбонильных производных белков и МДА в плазме крови больных РШМ с метастазами и без метастазов ($M \pm m$)

Группа	Спонтанная ОМБ			Индucedированная ОМБ			МДА нмоль/мл
	270 нм у.е. О.П./мг белка	370 нм мкМ/мг белка	530 нм у.е. О.П./мг белка	270 нм у.е. О.П./мг белка	370 нм мкМ/мг белка	530 нм у.е. О.П./мг белка	
осн. группа n=27	1,659±0,22 p<0,001	54,1±4,9 p<0,001	0,118±0,017 p<0,001	16,0±0,8 p<0,01	714,3±36,1 p<0,001	3,71±0,24	986,1±130,4 p<0,01
контр. группа n=29	0,691±0,19 p<0,01 p ₁ <0,01	31,2±2,3 p>0,1 p ₁ <0,001	0,084±0,029 p<0,05 p ₁ <0,01	24,28±1,3 p>0,1 p ₁ <0,01	831,6±37,3 p<0,05 p ₁ <0,01	3,67±0,24 p>0,1 p ₁ >0,1	734,4±40,1 0,05<p<0,1 p ₁ <0,05
доноры n=19	0,175±0,03	31,7±1,25	0,036±0,001	24,17±1,2	990,2±40,9	4,28±0,37	625±55,5

Примечание. Достоверность различий: p – по сравнению со значениями в группе доноров; p₁ – по сравнению со значениями в основной группе.

Таким образом, у всех обследованных больных РШМ содержание карбонильных групп, образующихся на стадии инициации спонтанной ОМБ (λ 270 нм), оказалось выше, чем в группе доноров. Наиболее высоким их уровень был у больных с метастазами, и превышал значения как в группе доноров, так и в контрольной группе – в 9,5 (p<0,001) и в 2,4 (p<0,01) раза соответственно. Из представленных данных видно, что в основной группе увеличилось содержание карбонильных производных, характеризующих дальнейшее окисление белковых молекул (λ 370 нм и 530 нм). Так содержание продуктов, регистрируемых при λ 370 нм, достоверно возросло на 71 % по отношению к норме, и на 73 % по отношению к контролю. Содержание карбонильных дериватов белков, регистрируемых при λ 530 нм, на 40,5 % превысили контрольные величины и почти в 3,3 раза донорские. У больных РШМ, находящихся на момент обследования в состоянии ремиссии, содержание продуктов, регистрируемых при λ 530 нм, возросло в 2,3 раза по отношению к донорам, а при 370 нм не отличалось от нормы. Накопление карбонильных групп, образующихся в результате индуцированного окисления (при λ 270 нм и 370 нм), у больных РШМ с метастазами было достоверно ниже, как по сравнению с донорскими значениями (на 33,8 % и 28 %), так и со значениями в контрольной группе (на 34 % и 14 %). У больных без метастазов уровень

карбонильных производных при λ 270 нм не отличался от значений в группе доноров, но оказался ниже на 16 % (p<0,05) при λ 370 нм.

Способность белковой молекулы к окислению и связыванию металлов переменной валентности является важным компонентом общей антирадикальной защиты. Окислительная модификация белков при физиологических концентрациях приводит к изменению конформации молекулы и увеличению ее чувствительности к действию протеолитических ферментов, что повышает доступность аминокислотных остатков, обладающих антиоксидантной активностью [4].

По уровню индуцированной ОМБ можно судить о количестве субстрата окисления и возможности его вовлечения в этот процесс, а также об устойчивости системы к окислительному стрессу. Таким образом, несмотря на повышение относительно доноров содержания карбонильных производных (при λ 270 нм и 530 нм), у больных РШМ без метастазов сохраняется возможность дальнейшего окисления белков. Кроме того молекулы белков у данных больных обладают большей лабильностью, чем у пациентов с метастазами, что может иметь значение для адаптивных изменений молекулы [1, 5].

Содержание вторичного продукта окисления липидов (МДА), отражающего интенсивность протекания процессов ПОЛ, у больных с метастазами увеличивалось,

как по сравнению с нормой, так и со значениями в контрольной группе (на 57,8% и 34,3% соответственно). В то же время у больных РШМ без метастазов наблюдалась лишь тенденция к повышению уровня МДА по отношению к донорам (на 17,5%).

Согласно полученным данным, у обследованных больных РШМ без метастазов отмечалось незначительное увеличение интенсивности ПОЛ, при этом у них происходило увеличение интенсификации процессов окисления белков по сравнению с донорами. В то время как, у больных РШМ с метастазами, параллельно с активацией ОМБ, наблюдалось усиление интенсивности процесса ПОЛ. Это в свою очередь может усиливать образование карбонильных производных белков.

Известно, что образующиеся в результате окисления липидов продукты (интермедиаты ПОЛ, МДА, 4-гидрокси-2-ноненаль и др.) могут вызывать модификации белковых молекул вследствие окисления SH-, NH₂- и CH₃-групп аминокислотных остатков белков, вследствие чего происходит увеличение содержания карбонильных производных белков, их фрагментация и образование внутри- и межбелковых сшивок [4, 6]. Кроме того, продукты ПОЛ (свободные радикалы, перекиси, альдегиды и др.) являются мутагенами и участвуют в инициации и промоции канцерогенеза [10].

Результаты изучения хемилюминесценции плазмы крови больных РШМ с метастазами и без метастазов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Интенсивность хемилюминесценции в плазме крови больных РШМ с метастазами и в состоянии ремиссии (M±m)

Группа	светосумма ХЛ имп. за 6 с
Основная группа n=27	4876±903 p<0,05
Контрольная группа n=29	2527±233 p<0,01 p ₁ <0,01
Доноры n=19	3156,4±189

Примечание. Достоверность различий: p – по сравнению со значениями в группе доноров; p₁ – по сравнению со значениями в основной группе.

Как видно из представленных в таблице данных, у больных РШМ с метастазами светосумма ХЛ плазмы крови достоверно возросла на 54,5%, по сравнению с таковой у доноров и на 93% по сравнению с контрольной группой. В группе больных РШМ в состоянии ремиссии светосумма ХЛ снижалась на 20% по сравнению со значениями в группе доноров.

Выводы

У обследованных нами больных РШМ происходит усиление процессов свободнорадикального окисления биомолекул. У больных РШМ в состоянии ремиссии окислительные процессы, затрагивающие белковые молекулы, преобладают над процессами окисления липидов. У больных РШМ с метастазами процессы конститутивного окисления белков (спонтанная ОМБ) и перекисидации липидов более интенсивны, чем у больных без метастазов. Стимулирующее воздействие активаторов окисления (среда Фентона), напротив, более выражено у больных без метастазов, что может свидетельствовать о большей стрессоустойчивости белковых молекул плазмы крови этих больных, а также о возможности участия белков в антирадикальной защите.

Список литературы

1. Бурмистров С.О., Опарина Т.И., Арутюнян А.В. Изменение чувствительности белков сыворотки крови к окислению при беременности // Журнал Акушерства и женских болезней. 2004. Т. 111. вып. 3. С. 11-13.
2. Воробьева Л.И., Гончарук И.В., Лукьянова Н.Ю. Прогностическое значение циклооксигеназы-2 и фактора роста эндотелия сосудов у больных раком шейки матки // Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. – Душанбе, 2010. – С.252.
3. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порохов И.С. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Методы ее определения // Вопр. мед. химии. 1995. Т. 41. № 1. С. 24-26.
4. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. // Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты. М. МАИК Наука/Интерпериодика, 2001. – 344 с.
5. Зинчук В.В., Степура Т.Л. Действие пероксинитрита на средство гемоглобина к кислороду in vitro // Биофизика. 2006. Т. 51. вып. 1. С. 32-38.
6. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма. Обзор // Биохимия. 2007. Т. 72. вып. 8. С. 995-1017.
7. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2009 году. М., 2010. – 195 с.
8. Шалашная Е.В. Использование показателей свободнорадикального окисления для оценки распространенности злокачественного процесса и эффективности противоопухолевого воздействия при раке молочной железы: дис... канд. биол. наук. 14.00.14.- Ростов-на-Дону, 2005.- 145 с.
9. Ragonese P., Giacalone A.R. // Note sull'evoluzione della diagnostica e della terapie del cervico-ca negli ultimi 40 anni attuali prospettive. // G. Ital. Obstet. e ginecol. 1993. Vol. 15. N 1. P. 63-66.
10. Ray G., Husain S.A. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis // Indian J. Exp. Biol. 2002. V. 40. N 11. P. 1213-1232.