

СОДЕРЖАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИДА АЗОТА В КРОВИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ЦЕРЕБРАЛЬНЫМИ МЕТАСТАЗАМИ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

**И.А. Горошинская, Е.И. Сурикова, К.Г. Айрапетов, И.В. Нескубина,
Е.В. Шалашная, Л.А. Немашкалова, П.С. Качесова**

*ФГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Росмедтехнологий»,
г. Ростов-на-Дону
344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, 63, e-mail: rnioi@list.ru*

Исследовано содержание NO-производных (NO-гемоглобина, NO-глутатиона, NO-тирозина, пероксинитрита) и показатели эндогенной интоксикации в плазме крови больных с церебральными метастазами. Выявлено нарушение детоксикационной функции альбумина, повышение концентрации NO-производных в плазме крови в зависимости от распространенности метастатического поражения головного мозга при нарастании эндогенной интоксикации вследствие значительного снижения связывающей способности альбумина. Полученные результаты позволяют судить о роли NO-производных в диссеминации опухоли и участии их в развитии эндотоксикоза.

Ключевые слова: метастазы в головной мозг, эндогенная интоксикация.

CONCENTRATION OF NITRIC OXIDE DERIVATIVES IN BLOOD OF CANCER PATIENTS WITH CEREBRAL METASTASES AND WITH DIFFERENT GRADE OF ENDOGENOUS INTOXICATION

**I.A. Goroshinskaya, E.I. Surikova, K.G. Airapetov, I.V. Neskubina,
E.V. Shalashnaya, L.A. Nemashkalova, P.S. Kachesova**

*Rostov Cancer Research Institute of Russian Medical Technologies, Rostov-on-Don
14-line Street, 344037-Rostov-on-Don, e-mail: rnioi@list.ru*

The concentration of nitric oxide derivatives (NO-hemoglobin, NO-glutathione, NO-tyrosine and peroxynitrite) and parameters of endogenous intoxication in plasma of cancer patients with cerebral metastases were studied. It was found the damaged detoxication function of albumin and increased concentration of NO-derivatives in blood plasma depending on the extent of metastatic involvement of the brain with progression of endogenous intoxication due to decrease in albumin-bound ability. The data obtained allow for the assessment of the role of NO-derivatives in tumor dissemination and their participation in the development of endotoxycosis.

Key words: cerebral metastases, endogenous intoxication.

В настоящее время несомненно значение оксида азота (NO) как универсального регулятора клеточного и тканевого метаболизма при опухолевом росте. По современным представлениям, система оксида азота реализует свое действие не только через NO-радикал, но и через молекулы NO-производных [8]. Формой стабильного существования NO в крови являются S-нитрозотиолы (S-нитрозоглутатион, S-нитрозоальбумин), динитрозильные комплексы с Fe, комплекс NO с гемоглобином. Эти соединения являются важными компонентами системы депонирования и транспортировки NO [1, 3, 11, 13]. Интересным представляется исследование системы оксида азота в условиях нарастающей гипоксии тканей при опухолевой прогрессии. Усиление при этом тканевой

деструкции приводит к развитию эндогенной интоксикации (ЭИ), при которой происходит стимуляция образующимися метаболитами, биологически активными веществами различных эффекторных клеток, усиление синтеза цитокинов. Важную роль в процессах ЭИ играют фактор некроза опухоли, интерлейкины, приводящие, в свою очередь, к усилению синтеза NO и увеличению содержания NO-производных в крови [18].

Материал и методы

Проведена оценка следующих показателей эндогенной интоксикации – общей (ОКА) и эффективной (ЭКА) концентрации альбумина, связывающей способности альбумина (ССА), уровня содержания молекул средней

массы MCM_{254} и MCM_{280} [2, 7] и содержания NO-производных – NO-гемоглобина, NO-глутатиона, NO-тирозина, пероксинитрита [4, 12] в плазме крови 19 пациентов с метастатическим поражением головного мозга. Среди них были 7 больных раком молочной железы, 6 – раком легкого, 4 – меланомой кожи, 2 – раком почки. Одиночный церебральный метастаз имел место у 7, множественные церебральные и множественные метастазы в другие органы – у 12 больных. Контрольную группу составили 15 человек без онкопатологии.

Результаты и обсуждение

В среднем в группе больных с метастатическим поражением головного мозга отмечалось значительное снижение эффективной концентрации альбумина и его связывающей способности на 54 % и 57 % соответственно по сравнению с ответствующими показателями у здоровых людей при неизменной общей концентрации альбумина. Содержание молекул средней массы в плазме крови возросло на 19 % и 29 % соответственно для MCM_{254} и MCM_{280} (табл. 1).

При индивидуальном анализе полученных результатов оказалось, что в группе больных с одиночными метастазами эффективная концентрация альбумина и связывающая способность альбумина были достоверно снижены на 32 % и 34 % соответственно по сравнению с

уровнем в группе доноров. В группе больных с множественными метастазами эти показатели снижаются в ещё большей степени по сравнению с нормой – на 62 % и 67 % и по сравнению с первой группой – на 44 % и 50% соответственно. При этом общая концентрация альбумина в плазме крови онкологических больных обеих групп не изменяется и остается на уровне здоровых людей.

В настоящее время существует представление о новом типе реакции организма на патологический процесс, заключающейся в изменении конформации молекулы альбумина [5]. Эта реакция проявляется в снижении величины эффективной концентрации альбумина. В результате нарушается связывание метаболитов, ухудшается их выведение из тканей, то есть нарушается детоксикационная функция альбумина. По нашим данным, у онкологических больных с увеличением распространенности метастатического поражения головного мозга происходит значительное снижение эффективной концентрации альбумина. В связи с этим в обеих группах больных возрастал индекс токсичности (ИТ), величина которого пропорциональна концентрации выведенных из тканей метаболитов. В группе с одиночным метастазом он вырос в 13 раз, а в группе с множественными метастазами – в 34 раза по сравнению с контролем и почти в 3 раза по сравнению с первой группой.

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации в крови больных с церебральными метастазами

Сравниваемые группы	Альбумин, г/л	ЭКА, г/л	ССА, %	MCM, усл.ед.			Индекс токсичности (ОКА/ЭКА)-1	Коэффициент интоксикации ($MCM_{254}/ЭКА$)×1000
				$\lambda=254$	$\lambda=280$	280/254		
Доноры (n=15)	45,3 ± 0,8	43,0 ± 1,1	94,8 ± 2,0	0,279 ± 0,004	0,206 ± 0,005	0,738 ± 0,019	0,06 ± 0,02	6,6 ± 0,2
Общая группа больных (n=19)	47,5 ± 2,6 p>0,1	20,0 ± 2,1 p<0,001	41,1 ± 4,5 p<0,001	0,331 ± 0,013 p>0,001	0,265 ± 0,014 p<0,01	0,803 ± 0,027 0,1>p>0,05	1,491 ± 0,222 p<0,001	21,0 ± 2,8 p<0,001
Одиночный метастаз (n=7)	47,4 ± 3,3 p>0,1	29,1 ± 3,7 p<0,01	62,9 ± 6,3 p<0,001	0,284 ± 0,010 p>0,1	0,231 ± 0,010 p<0,05	0,806 ± 0,030 p>0,1	0,77 ± 0,13 p<0,001	10,4 ± 1,2 p<0,01
Множественные метастазы (n=12)	47,6 ± 1,6 p>0,1 p ₁ >0,1	16,2 ± 1,9 p<0,001 p ₁ <0,01	31,7 ± 3,7 p<0,001 p ₁ <0,001	0,354 ± 0,020 p<0,01 p ₁ <0,01	0,288 ± 0,020 p<0,001 p ₁ <0,05	0,801 ± 0,039 p>0,1 p ₁ >0,1	2,04 ± 0,26 p<0,001 p ₁ <0,01	27,2 ± 3,1 p<0,001 p ₁ <0,001

Примечание: p – достоверность различий по сравнению со значениями у доноров; p₁ – достоверность различий между группами больных с одиночным и множественными церебральными метастазами.

Таблица 2

Содержание производных оксида азота в крови больных с церебральными метастазами при разной степени эндогенной интоксикации

Группы	Индекс токсичности (ОКА/ЭКА)-1	Коэффициент интоксикации (МСМ ₂₅₄ /ЭКА)×1000	NO-гемоглобин		NO-глутатион, нМ/мг белка	NO-тирозин, нМ/мг белка	Пероксинитрит, нМ/мг белка
			λ=418 нм усл.ед./мкг гемоглобина	λ=545нм нМ/мкг гемоглобина			
Доноры (n=15)	0,06 ± 0,02	6,6 ± 0,2	9,43 ± 0,94	21,93 ± 2,41	27,8 ± 2,1	5,18 ± 0,50	85,51 ± 5,31
Одиночный метастаз (n=7)	0,77 ± 0,13 p<0,001	10,4 ± 1,2 p<0,01	7,71 ± 1,17 p>0,1	24,80 ± 2,90 p>0,1	31,9 ± 3,0 p>0,1	4,30 ± 0,61 p>0,1	117,20 ± 12,50 p<0,05
Множественные метастазы (n=12)	2,04 ± 0,26 p<0,001 p ₁ <0,01	27,2 ± 3,1 p<0,001 p ₁ <0,001	17,30 ± 1,90 p<0,01 p ₁ <0,01	38,10 ± 5,11 p<0,01 0,1>p ₁ >0,05	41,9 ± 3,7 p<0,05 0,1>p ₁ >0,05	6,03 ± 0,45 p>0,1 p ₁ <0,05	181,70 ± 18,61 p<0,001 p ₁ <0,05

Примечание: p – достоверность различий по сравнению со значениями у доноров; p₁ – достоверность различий между группами больных с одиночным и множественными церебральными метастазами.

Отмечали увеличение уровня молекул средней массы: содержание среднемолекулярных пептидов МСМ₂₈₀ было достоверно выше у больных с одиночными метастазами и ещё более повышено в группе с множественными метастазами – на 40 %. Содержание МСМ₂₅₄ было достоверно увеличено по сравнению с контролем только во второй группе – на 27 %. В связи с этим коэффициент интоксикации (КИ) в группе с одиночным метастазом был на 58 % выше, чем у здоровых людей, а в группе с множественными метастазами возрастал в 4 раза по сравнению с контролем и в 2,6 раза по сравнению с первой группой. Таким образом, у больных с церебральными метастазами усиленные процессы эндогенной интоксикации были связаны с нарушением детоксикационной функции альбумина, причем в группе больных с множественными метастазами эти изменения были гораздо более выражены по сравнению с пациентами с солитарными метастазами.

В группе больных с одиночными метастазами и относительно невысокой степенью эндогенной интоксикации (КИ в 1,5 раза выше уровня доноров) не было отмечено достоверных изменений в содержании NO-гемоглобина, NO-глутатиона, NO-тирозина. Однако наблюдалось увеличение содержания пероксинитрита на 37 % по сравнению с контрольным уровнем (табл. 2).

В группе больных с множественными метастазами и высокой степенью эндогенной интоксикации (КИ в 4 раза выше уровня доноров) мы отмечали достоверное увеличение содержания всех исследованных NO-производных. Выросло содержание при обоих пиках NO-гемоглобина

на 83 % и 74 % по сравнению с уровнем у доноров и на 124 % и 54 % соответственно при 418 и 545 нм по сравнению с группой с солитарным поражением головного мозга. Содержание NO-глутатиона увеличилось на 51 % по сравнению с контролем и на 31 % по сравнению с первой группой. Содержание NO-тирозина было выше на 40 % по сравнению с первой группой. Уровень пероксинитрита был выше на 112 % по сравнению с контролем и на 55 % по сравнению с группой с одиночным метастазом.

Существующая в организме-опухоленосителе тканевая гипоксия возникает вследствие нарушения баланса поступления и потребления кислорода. Диссеминация опухоли в организме (множественное метастазирование) сопровождается увеличением потребности в кислороде. Учитывая наличие взаимосвязи между уровнем NO и pO₂ в ткани мозга, кислородзависимый характер регуляции механизма образования NO и системное влияние опухоли на организм [9, 15, 20], возможно, что усиление синтеза NO важно для обеспечения потребности опухолевой ткани в кислороде. Реализация этой потребности связана с релаксирующим действием NO-радикала на сосудистую стенку, усилением ангиогенеза [14, 16]. По мнению ряда авторов, NO-гемоглобин играет важную роль в процессах газообмена в капиллярной сети [3, 19]. Показано, что NO, высвобождаемый из эндотелиальных клеток, диффундирует прежде всего в кровь, а не в ткань, где взаимодействует с молекулой гемоглобина с образованием нитрозилгемоглобина или S-нитрозогемоглобина [3, 17]. Предполагается, что эти производные

модулируют сродство гемоглобина к кислороду, что в совокупности с вышеперечисленными фактами может влиять на оксигенацию ткани опухоли (метастаза).

Пероксинитрит (продукт взаимодействия $\text{NO}^\bullet$ и супероксидного анион-радикала), способствуя окислительному повреждению клеток, является важным фактором эндогенной интоксикации при некоторых патологических состояниях [10]. Цитотоксичность пероксинитрита проявляется в окислении прежде всего SH- и NH_2 -групп белков, протеолипидов, ДНК [8]. В результате окислительной модификации белков происходит в том числе увеличение степени фрагментации молекул, приводящее к увеличению показателей МСМ. Повышение содержания пероксинитрита в плазме крови больных с церебральными метастазами согласуется с данными об участии пероксинитрита в процессе опухолевой инвазии через влияние на функционирование некоторых матриксных металлопротеаз (ММП). При этом активация ММП, деструкция матрикса происходит с участием S-нитроглутатиона. Предполагается, что данный эффект пероксинитрита может быть опосредован через увеличение концентрации АФК, например при инактивации пероксинитритом цитохромоксидазы и митохондриальной Mn-СОД [6].

Таким образом, при диссеминации опухоли в организме наблюдается значительное снижение связывающей способности альбумина (что проявляется в уменьшении величин ЭКА и ССА), приводящее к ухудшению детоксикации ткани и нарастанию эндогенной интоксикации. При этом с увеличением распространенности опухолевого поражения мозга наблюдается увеличение содержания NO-производных в крови, играющих определенную роль в развитии процессов эндогенной интоксикации и обеспечении дальнейшей диссеминации опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа — эндогенные сигнальные агенты в клетках и тканях животных и человека. (Гипотеза) // Биофизика. 2004. Т. 49, вып. 4. С. 581–586.
2. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателей средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. 1984. № 3. С. 138–140.
3. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиол. наук. 2003. Т. 34, № 2. С. 33–45.
4. Лобышева И.И., Сереженков В.А., Ванин А.Ф. Взаимодействие динитрозильных тиолсодержащих комплексов железа с пероксинитритом и перекисью водорода in vitro // Биохимия. 1999. Т. 64, вып. 2. С. 194–200.
5. Лопухин Ю.М., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Конформационные изменения молекулы альбумина: новый тип реакции на патологический процесс // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2000. Т. 130, № 7. С. 4–9.
6. Лю М.Б., Подобед И.С., Едыгенова А.К., Лю Б.Н. Активные формы кислорода и пероксигенация в инвазии и метастазировании неоплазм // Успехи соврем. биол. 2004. Т. 124, № 4. С. 329–341.
7. Мельник И.А., Барановский П.В., Нестеренко Л.И. Новый способ оценки транспортной функции сывороточного альбумина // Лабораторное дело. 1985. № 4. С. 202–204.
8. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 556 с.
9. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестник РАМН. 2000. № 4. С. 35–41.
10. Окрут И.Е., Контрощикова К.Н. Оксид азота и показатели окислительного стресса у больных перитонитом под воздействием озонотерапии // Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека: Материалы 4-й национальной научно-практической конференции. Смоленск, 2005. С. 190–192.
11. Смирин Б.В., Ванин А.Ф., Малышев И.Ю. и др. Депонирование оксида азота в кровеносных сосудах in vivo // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. Т. 127, № 6. С. 629–632.
12. Стенуро И.И., Чайковская Н.А., Солодунов А.А. и др. Образование NO в процессе окисления ферроформ гемоглобина нитритом // Биохимия. 1997. Т. 62, вып. 9. С. 1122–1129.
13. Шумаев К.Б., Петрова Н.Э., Заббарова И.В. и др. Взаимодействие оксоферрилмиоглобина и динитрозильных комплексов железа // Биохимия. 2004. Т. 69, вып. 5. С. 699–705.
14. Jadeski L.C., Hum K.O., Chakraborty C. et al. Nitric oxide promotes murine mammary tumor growth and metastasis by stimulating tumor cell migration, invasiveness and angiogenesis // Int. J. Cancer. 2000. Vol. 86, № 1. P. 30–39.
15. James P.E., Miyake M., Swartz H.M. Simultaneous measurement of NO and pO₂ from tissue by in vivo EPR // Nitric Oxide. 1999. Vol. 3. № 4. P. 292–301.
16. Jiang T., Liu Yu-lin, Li Chen et al. Взаимосвязь и клиническое значение активности синтазы оксида азота и плотности микрососудов в ткани рака легкого // Acta Acad. Med. Mil. Tertiae. 2002. Vol. 24, № 4. P. 459–460.
17. Kozlov A.V., Sobhian B., Costantino G. et al. Experimental evidence suggesting that nitric oxide diffuses from tissue into blood but not from blood into tissue // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1536, № 2–3. P. 177–184.
18. O'Connor M., Salzmann A., Szabo C. Role of peroxynitrite in the protein oxidation and apoptotic DNA fragmentation in vascular smooth muscle cells stimulated with bacterial interferon-gamma // Shock. 1997. № 8. P. 439–446.
19. Thomas D.D., Liu X., Kantrow S.P. et al. The biological lifetime of nitric oxide: Implications for the perivascular dynamics of NO and O₂ // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 96. P. 355–360.
20. Vargiu C., Belliardo S., Cravanzola C. et al. Oxygen regulation of rat hepatocyte iNOS gene expression // J. Hepatol. 2000. Vol. 32, № 4. P. 567–573.

Поступила 1.11.07