

СОСТОЯНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ И РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) и рак предстательной железы (РПЖ) являются одной из актуальнейших проблем современной урологии. ДГПЖ гистологически определяется у 20% у мужчин до 40 лет и у большинства мужчин старше 40 лет, а в возрасте 80 лет диагностируется у 80% мужчин [3, 7]. РПЖ занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости и второе (после рака легких) в структуре онкологической смертности у мужчин пожилого возраста в промышленно-развитых странах [9].

Несмотря на чрезвычайно широкое распространение среди мужского населения среднего и пожилого возраста ДГПЖ и РПЖ, крайне мало исследований, посвященных изучению факторов антирадикальной защиты (АРЗ) крови у этих больных. В последние годы было показано, что именно факторы АРЗ не только снижают уровень образования реактивных оксигенных радикалов (РОР), но и совместно с РОР выполняют ряд позитивных функций. Они объединены в единую систему «АРЗ – РОР», которая обеспечивает инициацию процессов оксигенации гемоглобина, деление клеток, антибактериальную защиту, запускает процесс апоптоза клеток и др. функции [14].

Мы полагаем, что у этой категории урологических больных страдают функции АРЗ и антибактериальной защиты (АБЗ), что приводит, с одной стороны, к развитию гипоксии, а с другой – к развитию инфекционного процесса. Обе эти причины не способствуют продлению жизни, особенно у больных, которым произведены палиативные операции. В связи с этим для них наряду с хирургическим пособием должна проводиться метаболическая коррекция. Поэтому и возникла необходимость проследить изменение состояния антирадикальной системы при ДГПЖ и РПЖ.

Целью настоящей работы явилось выявление изменения показателей антирадикальной защиты крови у больных с доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы.

Материалы и методы исследования

Исследования крови проведены у 14 здоровых мужчин в возрасте 51–63 лет (контроль), у 27 больных с ДГПЖ в возрасте 50–82 лет и у 22 – с РПЖ в возрасте 58–88 лет. Кровь брали рано утром натощак из локтевой вены при помощи одноразовых шприцев на 5 мл, предварительно смоченных раствором гепарина, и переносили в стерильные центрифужные пробирки с 5–6 каплями гепарина. В крови определяли 8 показателей по ниже приведенным методикам.

1. Количество эритроцитов определяли в растворе Гоуэрса по методу Рассела в модификации П. Г. Сторожука и соавт. [16]. Для измерения оптичес-

кой плотности взвеси Эр использовали микроколориметр МКМФ-1 ($\lambda = 610$ нм, толщина слоя 5 мм).

2. Глютатионредуктазную (КФ-1.6.4.2) активность исследовали методом в описании Л. Б. Юсуповой [20], который основан на свойстве фермента восстанавливать глутатион за счет НАДФН. По убыли НАДФН судили об активности ГлР. Оптическую плотность измеряли на КФК-2МП ($\lambda = 340$ нм).

3. Активность супероксиддисмутазы (КФ-1.15.1.1) определяли методом N. Nishikimi et. al. в модификации П. Г. Сторожука, А. П. Сторожука [17], где используется реакция, основанная на способности СОД конкурировать с нитросиним тетразолиумом (НСТ) за супероксидные анионы, образующиеся в результате аэробного взаимодействия НАДН и фенозинметасульфата. При этой реакции НСТ восстанавливается с образованием окрашенного формазана. СОД тормозит восстановление НСТ. Интенсивность окраски измеряли точно через 90 секунд на КФК-2МП при $\lambda = 540$ нм в кювете с толщиной слоя 5 мм.

4. Активность сукцинатдегидрогеназы (КФ-1.3.5.1) определяли методом П. Г. Сторожука, А. П. Сторожука [12], основанным на способности фермента восстанавливать НСТ в формазан. Интенсивность развившейся окраски измеряли на КФК-2МП при $\lambda = 540$ нм. Единица СДГ равна 1 мкМ НСТ, восстановленного в формазан за 1 мин в стандартных условиях.

5. Каталазную (КФ-1.11.1.6) активность определяли методом H. Aebi et. al. в модификации П. Г. Сторожука, С. П. Корочанской [15]. Принцип метода состоит в том, что H_2O_2 , взаимодействуя с молибдатом аммония, образует солевой комплекс, который дает стойкое окрашивание. Интенсивность окраски измеряли на КФК-2МП при $\lambda = 410$ нм, которая прямо пропорциональна концентрации H_2O_2 . За единицу КА принимают 1 мМ H_2O_2 , разложившейся до H_2O и O_2 за 1 мин.

6. Определение способности сыворотки крови гасить люминол-хеми-люминесценцию (ЛХЛ) основано на способности люминола в фосфатном буфере с pH 6,8 давать люминесцентное свечение в присутствии 0,3 М раствора H_2O_2 [19]. Люминотестор (ЛТ-1, $\lambda = 335$ нм) позволяет установить максимальную величину вспышки ЛХЛ, вызванной стандартной смесью «раствор люминола + H_2O_2 », равной $10 \pm 0,1$ единицам. При добавлении сыворотки крови происходит гашение ЛХЛ. Интенсивность вспышки ЛХЛ в системе «люминол + H_2O_2 + сыворотка крови» зависит от способности сыворотки крови гасить (утилизировать) оксигенные радикалы.

7. Количество *церулоплазмينا* (КФ-1.16.3.1) в сыворотке крови определяли методом Равина в описании В. С. Камышникова [6], который основан на способности церулоплазмينا окислять *солянокислый-р-фенилендиамин* в ацетатном буферном растворе (рН 5,5). Образовавшийся продукт дает стойкое фиолетовое окрашивание, интенсивность которого измеряется на КФК-2МП при $\lambda = 540$ нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

8. Содержание *нитратов* (*нитритов*) в сыворотке крови определяли по методике с использованием реактива Грисса [2]. По калибровочной кривой со стандартными растворами нитрата натрия (концентрацией от 1,0 до 150 мкМ) определяли количество нитратов. Интенсивность развившейся слабо-розовой окраски определяли на КФК-2МП при $\lambda = 540$ нм.

Результаты исследований статистически обработаны [5] и сведены в таблицы 1 и 2.

Результаты и их обсуждение

Поскольку ферменты глутатионредуктаза (ГлР), каталаза (КА), супероксиддисмутаза (СОД) и сукцинатдегидрогеназа (СДГ) содержатся в эритроцитах, их активность определялась в цельной крови с параллельным определением количества эритроцитов (Эр). Выбор этих ферментов обусловлен тем, что СОД диссмутирует супероксидный анион кислорода (O_2^-), делая его способным соединяться с H^+ , донорами которого являются дегидрогеназы (СДГ, ГлР и др.), превращая O_2^- в H_2O_2 . На образовавшуюся H_2O_2 действует каталаза, разлагая ее на молекулярный O_2 и H_2O [13]. Эти ферменты и РОР необходимы для инициации процессов оксигенации гемоглобина, для антибактериальной защиты, для деления клеток и для ряда других позитивных функций [14, 18].

Факторы АРЗ сыворотки крови также определялись целенаправленно. Церулоплазмин обладает многочисленными функциями, в том числе способностью перехватывать O_2^- и превращать его в O_2 . Показатель ЛХЛ

отражает способность плазменных факторов крови утилизировать (гасить) РОР.

Что же касается определения нитратов (нитритов), то по их количеству судят об активности нитрооксидсинтазы, которая путем сложных биохимических реакций продуцирует активную форму кислорода – нитрооксид (NO^-). Нитрооксид через ферментные системы участвует в регуляции тонуса гладкой мускулатуры кровеносных сосудов, бронхов, мочевого пузыря, уретры и других органов. Наряду с этим NO^- является универсальным мессенджером многих физиологических процессов, протекающих в организме [11].

В таблице 1 представлены результаты исследований ферментов цельной крови, где видно, что количество эритроцитов у больных ДГПЖ и РПЖ снижено одинаково на 8,6% по сравнению с контролем. Поскольку такое снижение носит статистически недостоверный характер, следует говорить о тенденции к их снижению.

При этом у больных с ДГПЖ существенно снижена активность КА (на 61,9%), СОД (на 20,5%), СДГ (на 52,4%) и ГлР (на 21,3%). Снижение активности этих ферментов свидетельствует о том, что оно происходит не за счет количества эритроцитов, а за счет наступивших в них метаболических расстройств и нарастании явлений гипоксии.

У больных РПЖ снижена активность только СОД (на 41,9%) и СДГ (на 24,7%), в то время как активность КА практически не изменяется, а активность ГлР имеет тенденцию к увеличению (+14%, $p < 0,1$).

Антипараллельные, хотя и слабо выраженные, изменения активности ГлР у больных ДГПЖ и РПЖ, по-видимому, зависят от вида опухоли. Одной из теорий развития РПЖ является теория, связанная с изменением гормонального статуса. При старении мужского организма капиллярный кровоток в предстательной железе нарушается, развивается гипоксия и усиливаются реакции перекисного окисления липидов в ткани простаты. Это, в свою очередь, способствует повышению концентрации и ферментативной активности *5 α -редуктазы*,

Таблица 1

Ферментные факторы антирадикальной защиты крови у больных доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы

Показатель	Контроль (n=14), M $\pm$ m %	Больные ДГПЖ (n=27), M $\pm$ m %	Больные РПЖ (n=22), M $\pm$ m %
Эритроциты (10^9 /мл)	4,66–0,158 100	4,26–0,157 91,4	4,27–0,142 91,4
Каталаза (ед./мл)	358–21,4 100	157–14,4 38,1*	377–33,1 105,3
Супероксиддисмутаза (ед./мл)	166–8,77 100	132–9,4 79,5*	96,4–13,5 58,1*
Сукцинатдегидрогеназа (ед./мл)	267–26,18 100	127–13,2 47,6*	201–12,7 75,3*
Глутатионредуктаза (ед./мл)	340–40,9 100	302–37,2 78,7*	388–45,4 114

Примечание: * – обозначено здесь и далее $p < 0,05$.

Плазменные факторы антирадикальной защиты у больных доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы

Показатель	Контроль (n = 14), M ± m %	Больные ДГПЖ (n=27), M ± m %	Больные РПЖ (n=22), M ± m %
Церулоплазмин (мг/л)	271–19,25 100	301,7–13,8 111,3	239,3–17,9 88,3
Нитраты (мкм/л)	22,28–2,02 100	14,67–0,98 65,8*	14,95–1,30 67,1*
Люминол-ХЛ (% гашения)	88,14	75,0	64,26

под действием которой *тестостерон* превращается в более мощный метаболит *дигидротестостерон*. У пожилых людей формируется андрогенорецепторный комплекс и начинает проявляться стимулирующее действие эстрогенов – активируется биосинтез белка, пролиферация клеток и ряд других процессов. Все эти факторы являются важнейшими звеньями в патогенезе ДГПЖ и РПЖ [1, 4, 10]. Мы полагаем, что обмен ГлР эритроцитов тесно взаимосвязан с 5 α -редуктазой простаты и что они индуцируют активность друг друга. Поэтому, хотя и незначительно, повышается (+14%) активность ГлР крови при РПЖ.

В таблице 2 представлены плазменные факторы АРЗ. На ней видно, что содержание церулоплазмينا у больных ДГПЖ имеет тенденцию к повышению (+ 11,3%), а у больных РПЖ, наоборот, к снижению (-11,7%). лХЛ снижается при ДГПЖ на 13%, а при РПЖ на 24%. В связи с этим можно говорить, о том, что плазменные факторы АРЗ при РПЖ больше угнетаются, чем при ДГПЖ.

Из плазменных факторов АРЗ наибольшего внимания заслуживают показатели нитратов (нитритов). Их содержание в плазме крови при этих заболеваниях снижается примерно одинаково (на 34–33%). Нитраты отражают количество образующегося нитрооксида, который принято считать эндотелийзависимым фактором релаксации сосудов. Нитрооксид обладает широким спектром биологического действия, регулируя апоптозную гибель клеток, модулируя развитие воспалительной реакции, ингибируя процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях и синтез АТФ [8, 11].

Поскольку из-за снижения биосинтеза NO⁻ нарушается функционирование гладкой мускулатуры, расстраивается ресинтез АТФ и развивается воспаление, по-видимому, и наступают те многообразные симптомы патологического процесса, которые характерны для ДГПЖ и РПЖ.

Выводы

1. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы сопровождается снижением активности супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, сукцинатдегидрогеназы и каталазы (на 20,5–62,0%), а

при раке предстательной железы снижается только активность супероксиддисмутазы и сукцинатдегидрогеназы (на 25–45%) по сравнению с контролем, которые не зависят от содержания эритроцитов в крови.

2. При ДГПЖ и РПЖ в сыворотке крови в одинаковой степени снижается содержание нитратов (на 33–34%), снижается и ее способность гасить лХЛ (на 13 и 24% соответственно по сравнению с контролем).

3. Выявленные отклонения активности ферментов, содержания нитратов и способности сывороточных факторов гасить лХЛ свидетельствуют не только о снижении антирадикальной защиты крови, но и о явлениях нарастающей гипоксии у больных ДГПЖ и РПЖ.

Поступила 15.11.2006

ЛИТЕРАТУРА

- Бухаркин Б. В., Подрегульский Б. В. Клиническая онкология. 1999. Т. 1. № 1.
- Голиков П. П., Матвеев С. Б., Пахомова Г. Б. и соавт. Клиническая диагностика. 1999. № 9. С. 17–18.
- Горилковский Г. М. Современная лекарственная терапия доброкачественной гиперплазии предстательной железы // <http://www.androclinic.ru/terminology/word/%C4%EE%13.04.2006>.
- Камалов А. Перекисное окисление при аденоме простаты // <http://www.urology.com.ua/newspage>. 21.03.2005.
- Каминский Л. С. Обработка клинических и лабораторных данных. Л., 1959. 312 с.
- Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск, 2000. Т. 2. С. 71–75.
- Костев Ф. И. Лечение доброкачественной гиперплазии предстательной железы – комментарий специалиста. <http://www.provisor.com.ua/archive/2001/№8/art42.27.01.2006>.
- Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Реутов В. П. Биохимия. 2000. Т. 65, вып. 4. С. 485–503.
- Михеев Н. Н. Рак предстательной железы // Клинический вестник. 2000. № 3.
- Новодворская И. К., Мазанов Г. П., Дудник В. С. Кремлевская медицина // Клинический вестник. 2000. № 3.
- Реутов В. П., Орлов С. Н. Физиология человека. 1993. Т. 19, № 1. С. 124–135.

12. Сторожук П. Г., Сторожук А. П. Способ определения фермента сукцинатдегидрогеназы в крови. Патент РФ, № 2236011. 2004.
13. Сторожук П. Г. Вестн. интенсивн. терапии. 2000. № 3. С. 8–13 и № 4. С. 39–43.
14. Сторожук П. Г. Открытия кафедры биохимии КГМУ и их значение для медицины // Успехи современного естествознания. 2005. № 10, прилож. 1. С. 245–253.
15. Сторожук П. Г., Корочанская С. П. Тез. Рос. конф. «Органосохраняющие принципы в хирургии неотложных состояний». Ейск, 2001. С. 121–122.
16. Сторожук П. Г., Сторожук А. П. Новые техн. реш. в диагностике и лечении патологии органов эндокринной системы // Новое в медицине. Краснодар, 1991. С. 127–128.
17. Сторожук П. Г., Сторожук А. П. Вестн. интенсивн. терапии. 1998. № 4. С. 15–17.
18. Сторожук П. Г., Сторожук А. П. Тр. Респ. центра функций. хирургической гастроэнтерологии. Краснодар, 1999. С. 379–385.
19. Сторожук П. Г., Сторожук А. П., Быков И. М. Астма. 2001. Том 2, № 2. С. 54–59.
20. Юсупова Л. Б. Лабор. дело. 1989. № 4. С. 10.

P. G. STOROZHUK, A. J. TSYGANKOV

CONDITION OF ANTIRADICAL PROTECTION OF BLOOD AT PATIENTS GOOD-QUALITY HYPERPLASIA AND A CANCER PROSTATE GLAND

It has been proved that the activity of blood enzymes in patients suffering from non-malignant hyperplasia of prostate (27 patients) and those suffering from carcinoma of prostate (22 patients) is decreased when compared to the controlled group (14 patients).

Within the cases of non-malignant hyperplasia of prostate the activity of superoxide dismutase, succinate dehydrogenase, glutathione reductase and catalase is reduced, while in case; carcinoma of prostate only the first two enzymes are affected. For all this, the level of nitrate in serum sanguinis in both groups falls and its ability to put out NO is lowered as well.

А. В. ФАЙТЕЛЬСОН, О. С. ГУДЫРЕВ, М. В. ПОКРОВСКИЙ, Г. М. ДУБРОВИН

МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НАДКОСТНИЦЕ И КОСТНОЙ ТКАНИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ

*Кафедра травматологии и ортопедии с курсом хирургии катастроф
Курского государственного медицинского университета*

Введение

Остеопороз относят сегодня к ведущим заболеваниям человека, таким как рак, инфаркт миокарда, инсульт, внезапная смерть. Это связано не только с высокой его распространенностью, но и с тяжестью исхода – возникновением переломов. Достаточно сказать, что смертность при характерном для этого заболевания переломе шейки бедра в течение первых 6 месяцев после перелома достигает 30% [5].

Социальная значимость остеопороза определяется его последствиями и осложнениями – нетравматическими переломами позвоночника и трубчатых костей, обуславливающими значительный подъем заболеваемости, инвалидности и смертности среди лиц пожилого возраста и, соответственно, большие материальные затраты в области здравоохранения [1, 2].

Патогенетическая терапия остеопороза традиционно включает препараты, замедляющие костную резорбцию, стимулирующие костеобразование, и препараты многопланового действия [3, 7]. Однако увеличение частоты остеопороза и его осложнений показывает, что в настоящее время нет надежных методов медикаментозного лечения и профилактики этого заболевания. Это указывает на актуальность поиска новых звеньев в патогенезе развития остеопороза.

Целью нашего исследования стало изучение особенностей микроциркуляции в надкостнице и костной ткани метафиза бедра у крыс при экспериментальном остеопорозе.

Материалы и методы исследования

Для изучения микроциркуляции использовались 73 самки крыс линии Wistar массой 200–300 г. Для проведения исследования животные были разделены на две группы: контрольную и экспериментальную. В контрольную группу входили 43 интактные крысы; экспериментальную группу составляли 30 крыс с остеопоротическими изменениями костей скелета. Генерализованный остеопороз у крыс экспериментальной группы моделировался следующим образом: производилась двусторонняя овариэктомия по стандартной методике, затем исследуемые крысы содержались в течение восьми недель в условиях вивария. Остеопоротические изменения в костях у крыс подтверждались по истечении указанного срока путем микроскопического исследования срезов костей скелета: бедренной, плечевой костей, позвонков [4, 6].

В эти же сроки предварительно производилась оценка микроциркуляции в надкостнице и костной ткани в обеих группах исследуемых животных. Для получения данных микроциркуляции использовался лазер-доплеровский флоуметр Biopac systems MP-100 с датчиком TSD-144; регистрация и обработка данных производились с помощью программы AcqKnowledge версии 3.8.1. Показатели микроциркуляции имели вид ЛДФ-грамм и выражались в перфузионных единицах (ПЕ, ВПУ).

Методика измерения микроциркуляции заключалась в следующем: после наркотизации крысы этиловым эфиром разрезом кожи остро и тупо производился