

Сравнительная характеристика оксидативного стресса при раке шейки матки на разных клинических стадиях заболевания

И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, Д.Р. Арсланова, Е.Г. Сидоренко

Ульяновский государственный университет

Контакты: Инна Ивановна Антонеева Naum-53@yandex.ru

В опухолевой ткани, плазме крови и эритроцитах больных раком шейки матки (РШМ) на различных клинических стадиях заболевания оценивали параметры оксидативного стресса по уровню малонового диальдегида (МДА), активности глутатион-редуктазы, глутатион-трансферазы, супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. В динамике опухолевой прогрессии установлено, что в опухолевой ткани происходит возрастание МДА и глутатионзависимых ферментов при одновременном снижении СОД и каталазы, что может свидетельствовать о развитии оксидативного стресса. Полученные данные позволяют предполагать нарастание выраженности оксидативного стресса в эритроцитах и опухолевой ткани при РШМ в динамике опухолевой прогрессии.

Ключевые слова: рак шейки матки, оксидативный стресс, малоновый диальдегид, глутатион-редуктаза, глутатион-трансфераза, супероксиддисмутаза, каталаза

Comparative characterization of oxidative stress in cervical cancer at different clinical stages of disease

I.I. Antoneeva, T.P. Gening, D.R. Arslanova, E.G. Sidorenko

Ulyanovsk State University

Parameters of oxidative stress on the level of malondialdehyde (MDA), activity of glutathione-reductase, glutathione-transferase, superoxide-dismutase (SOD) and catalase in tumor tissue, plasma and red blood cells of patients with cervical cancer (CC) was evaluated at various clinical stages of the disease. It is revealed that an increase in tumor tissue MDA and glutathione enzymes while reducing SOD and catalase, which may indicate the development of oxidative stress in the dynamics of tumor progression. The data obtained suggest the increase of expression of oxidative stress in red blood cells and tumor tissue in CC in the dynamics of tumor progression.

Key words: cervical cancer, oxidative stress, malondialdehyde, glutathione-reductase, glutathione-transferase, superoxide-dismutase, catalase

Введение

Рак шейки матки (РШМ) занимает 2-е место среди злокачественных новообразований женских репродуктивных органов [1] и продолжает оставаться важнейшей проблемой онкологии. По данным Международного агентства по изучению рака, ежегодно в мире регистрируют 371 тыс. новых случаев РШМ и ежегодно от него умирает 190 тыс. женщин [2]. При этом заболеваемость РШМ значительно варьирует не только в разных странах, но и внутри одной страны [3]. В течение 20 лет в России в соответствии с общей тенденцией развитых индустриальных стран отмечалось постепенное снижение заболеваемости РШМ (стандартизированный показатель — 10,8) наряду с ростом заболеваемости среди молодых женщин в возрастной группе до 40 лет [4]. Сегодня нет единого мнения о биологической роли окислительных процессов с участием активных форм кислорода (АФК). Большинство исследователей считают АФК важными регуляторами клеточных процессов и ключевым элементом изменения программ пролиферации, апоптоза и дифференцировки, а течение многих патологических процессов определяется балансом про-

оксидантов и антиоксидантов (АО) [5]. В то же время существует мнение, что АФК являются функциональной составляющей метаболизма человека и невозможно изменить окислительные процессы с их участием простыми экзогенными воздействиями [6], а неоднозначность эффектов при воздействии АО может быть связана с механизмами защиты клеток от окислительного стресса [7].

Цель исследования — оценка состояния системы перекисное окисление липидов (ПОЛ) — АО в крови и опухолевой ткани в динамике РШМ.

Материалы и методы

В исследование были включены 29 первичных больных РШМ, находившихся на I–IV стадиях заболевания (по FIGO) и проходивших лечение в Ульяновском областном клиническом диспансере. Материалом для исследования служили послеоперационные образцы опухолевой ткани, плазма и эритроциты. Диагноз у всех больных был подтвержден морфологически. В качестве группы госпитального контроля (с целью получения для исследования ткани внешне

нормальной шейки матки) к обследованию были привлечены 20 пациенток, подвергнувшихся в том же отделении операции по поводу миомы матки (группа сравнения). Образцом при исследовании плазмы и эритроцитов служила донорская кровь. В 1-ю группу ($n = 10$) вошли пациентки с начальными стадиями РШМ (Ia1, Ia2 по FIGO), во 2-ю ($n = 12$) — с ограниченным опухолевым процессом (Ib–IIa стадии) и в 3-ю ($n = 11$) — с распространенным процессом (IIb–IV). Интенсивность ПОЛ в гомогенатах, плазме и эритроцитах оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой [8]. Ферментативный компонент АО-системы (АОС) оценивали по уровням активности каталазы, глутатион-редуктазы (ГР), глутатион-трансферазы (ГТ) [9] и супероксиддисмутазы (СОД) [10] и пересчитывали на 1 мг белка для ткани. Белок определяли по Брэдфорду [11].

Статистический анализ был проведен с использованием программы Statistica 6.0 с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты

В ходе проведенных исследований на всех стадиях заболевания было установлено значимое увеличение уровня МДА в опухолевой ткани по сравнению с таковым в ткани внешне не измененной шейки матки (рис. 1).

При изучении ферментативного звена АО-защиты в опухолевой ткани при РШМ была отмечена зависимость уровня активности от стадии заболевания. Так, активность СОД, значимо повышенная по отношению к группе сравнения, у пациенток с начальными стадиями РШМ ($3,21 \pm 1,301$ у.е./мг белка против $0,71 \pm 0,169$ у.е./мг белка в контроле) снижается на стадии с ограниченным опухолевым процессом (Ib–IIa) и продолжает снижаться на стадии с распространенным (IIb–IV) процессом ($1,91 \pm 0,082$ и $1,52 \pm 0,329$ у.е./мг белка соответственно). Данные представлены на рис. 2. Сходная динамика активности имела место и для ка-



Рис. 2. Активность каталазы и СОД в опухолевой ткани больных РШМ на разных клинических стадиях заболевания

талазы опухолевой ткани. Незначительно повышенная на начальной стадии заболевания ($0,13 \pm 0,043$ ммоль/мин/мг белка против $0,12 \pm 0,012$ ммоль/мин/мг белка в контроле) активность каталазы последовательно и значительно снижалась на последующих стадиях заболевания ($0,09 \pm 0,018$ и $0,07 \pm 0,016$ ммоль/мин/мг белка соответственно), см. рис. 2.

В то же время динамика ГР и ГТ — ферментов глутатионовой группы эндогенных АО — несколько иная. Нами было зарегистрировано существенное и значимое возрастание активности этих ферментов при прогрессировании РШМ (рис. 3).

Таким образом, при снижении активности СОД и каталазы имело место увеличение активности глутатионзависимых ферментов ГР и ГТ. На снижение каталазной активности опухолевой ткани при РШМ указывают также и другие авторы [8]. Существует мнение, что подобная динамика ферментативного звена АОС в злокачественных клетках свидетельствует о ведущей роли ГР и ГТ в инактивации пероксидов [7].

Кроме того, снижение активности СОД и каталазы может быть связано со снижением генерации H_2O_2 ,

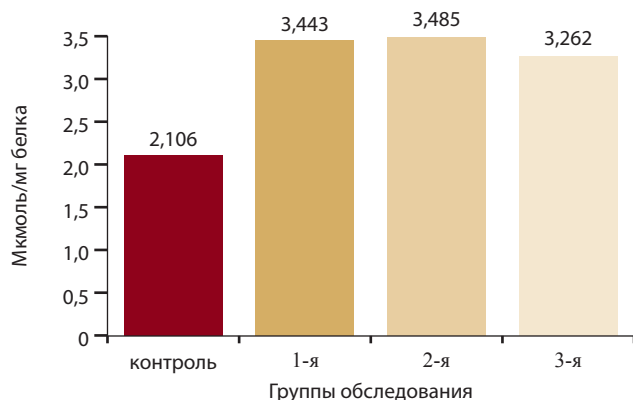


Рис. 1. Уровень МДА в опухолевой ткани больных в динамике РШМ

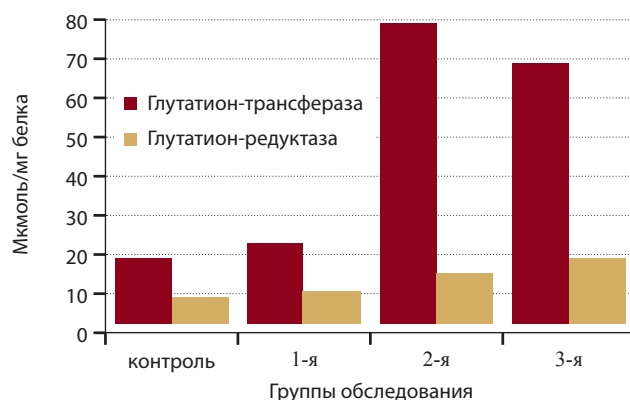


Рис. 3. Уровни ГР и ГТ в ткани опухоли РШМ в динамике заболевания

Таблица 1. Система ПОЛ — АО в плазме больных РШМ на разных клинических стадиях

Показатель	Группа			
	контроль (n = 10)	1-я (n = 10)	2-я (n = 12)	3-я (n = 11)
МДА, мкмоль/л	7,995 ± 0,544	5,403 ± 0,734 (p = 0,019)	4,228 ± 0,461 (p = 0,001)	3,672 ± 0,406 (p = 0,001)
ГР, мкмоль/мин/л	0,018 ± 0,008	0,082 ± 0,014 (p = 0,001)	0,023 ± 0,004 (p = 0,062; p ₁ = 0,002)	0,025 ± 0,004 (p = 0,059; p ₁ = 0,002)
ГТ, мкмоль/мин/л	0,031 ± 0,008	0,051 ± 0,010 (p = 0,042)	0,059 ± 0,013 (p = 0,038)	0,045 ± 0,005 (p = 0,082; p ₁ = 0,066)
Каталаза, ммоль/мин/л	0,231 ± 0,046	0,127 ± 0,053 (p = 0,005)	0,043 ± 0,012 (p = 0,002; p ₁ = 0,006)	0,026 ± 0,005 (p = 0,002; p ₁ = 0,056)

Примечание. Здесь и в табл. 2: p — относительно соответствующего показателя в группе контроля; p₁ — относительно соответствующего показателя на предыдущей стадии.

Таблица 2. Система ПОЛ — АО в эритроцитах больных РШМ на разных клинических стадиях

Показатель	Группа			
	контроль (n = 10)	1-я (n = 10)	2-я (n = 12)	3-я (n = 11)
МДА, мкмоль/л	305,43 ± 10,36	417,62 ± 42,23 (p = 0,032)	485,6 ± 32,15 (p = 0,016)	437,57 ± 30,99 (p = 0,010)
ГР, мкмоль/мин/л	0,073 ± 0,006	0,057 ± 0,006 (p = 0,063)	0,076 ± 0,010 (p ₁ = 0,141)	0,086 ± 0,008 (p ₂ = 0,012)
ГТ, мкмоль/мин/л	0,204 ± 0,025	0,311 ± 0,034 (p = 0,025)	0,377 ± 0,034 (p = 0,009)	0,321 ± 0,027 (p = 0,012)
Каталаза, ммоль/мин/л	41,83 ± 2,80	10,70 ± 5,49 (p = 0,005)	14,56 ± 2,16 (p = 0,020)	27,75 ± 4,62 (p = 0,032)
СОД, у.е./л	0,827 ± 0,193	0,703 ± 0,142 (p = 0,168)	0,773 ± 0,096 (p = 0,160)	0,769 ± 0,147 (p = 0,095)

Примечание. p₂ — относительно соответствующего показателя на предыдущей стадии.

ингибирующей размножение клеток, в динамике прогрессии РШМ. Повышенное содержание ГТ и ГР при одновременном снижении активности каталазы и СОД приводит к усилению диспропорции образования O₂⁻ и H₂O₂.

При изучении параметров системы ПОЛ — А О в плазме больных РШМ выявлено, что уровень МДА, существенно сниженный по сравнению с таковым в группе контроля уже на начальной стадии заболевания, при прогрессировании опухоли продолжает уменьшаться (табл. 1). В группе с ограниченным опухолевым процессом концентрация МДА составляет 2,59 ± 0,316, во 2-й — 2,81 ± 0,241, в 3-й — 2,09 ± 0,163 мкмоль/л против 7,994 ± 0,543 мкмоль/л в группе контроля. Данные об активности каталазы и ГР в плазме крови у больных РШМ представлены в табл. 1. Стадия Ia характеризуется

достоверным повышением активности ГР относительно таковой в группе контроля, на стадиях Ib—IIab наблюдается значительное падение активности ГР как относительно предыдущей стадии, так и по отношению к контрольным значениям. На стадиях с распространенным опухолевым процессом (3-я группа) активность фермента близка к показаниям, полученным в группе контроля. Активность данного фермента в эритроцитах больных РШМ меняется в зависимости от стадии, при этом зафиксировано достоверное его падение. Активность каталазы в плазме и эритроцитах подчиняется той же динамике (табл. 1, 2). СОД также снижается, причем особенно на стадии Ia (см. табл. 2).

В эритроцитах больных РШМ уровень МДА был выше показателей в группе контроля на всех стадиях опухолевого процесса.

Выводы

Таким образом, опухолевая трансформация сопровождается изменениями внутриклеточного метаболизма, в том числе образованием и утилизацией АФК. Снижение активности СОД — фермента, катализирующего в митохондриях реакцию дисмутации O_2^- с образованием H_2O_2 , а также повышение активности глутатионзависимых ферментов, ГТ и ГР, участвующих в разложении

перекисей, может свидетельствовать о том, что количество супероксидного анион-радикала, усиливающего пролиферацию, возрастает, а количество H_2O_2 , ингибирующей клеточную пролиферацию, значительно снижено. Полученные результаты позволяют предположить возникновение на фоне оксидативного стресса в динамике опухолевой прогрессии РШМ популяции клеток со сниженным содержанием H_2O_2 .

ЛИТЕРАТУРА

1. Бебнева Т.Н., Прилепская В.К. Папилломавирусная инфекция и рак шейки матки. *Практ гинекол* 2001; 3(3):77–82.
2. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55(2):74–108.
3. Писарева Л.Ф., Бояркова А.П., Коюкова Е.В., Коюкова Т.В. Особенности заболеваемости раком шейки матки населения Читинской области. *Сиб онкол журн* 2010; 6(42):42–7.
4. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2002 г. (заболеваемость и смертность). М., 2004.
5. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008.
6. Linnane A.W., Kios M., Vitetta L. Healthy aging: regulation of the metabolome by cellular redox modulation and prooxidant signaling systems: the essential roles of superoxide anion and hydrogen peroxide. *Biogerontology* 2007;8(5):445–67.
7. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. Активная защита при окислительном стрессе. *Антиоксидант — респонсивный элемент. Биохимия* 2006;71(9):1183–97.
8. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лаб дело* 1988;(11):41–3.
9. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика. Справочник в 2 т. СПб.: Интермедика, 1999. Т.2; с. 27–30.
10. Nishikimi M., Appa N., Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenacine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;46:849–54.
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248–54.