

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖЕЛУДКА

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, С.Д. Дмитриева, О.В. Шляхова,  
Н.В. Мусиенко, Н.Д. Черярина, Л.Д. Ткаля

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

Проведено изучение отдельных показателей процессов перекисного окисления и функционирования системы антиоксидантной защиты (активность каталазы, супероксиддисмутазы, суммарная пероксидазная активность, концентрация витаминов А и Е, уровень малонового диальдегида) в биоптатах ткани патологических очагов и перифокальной зоны при раке, полипах и хроническом воспалении желудка. В 75 % случаев активность и направленность свободнорадикальных процессов в ткани аденомы была идентична таковой при аденокарциномах желудка. При хроническом воспалении общей с аденокарциномами метаболической особенностью было нарушение естественного каскада антиоксидательных ферментов СОД/каталаза. Изменения свободнорадикальных процессов и функционирования системы антиоксидательной защиты в биоптатах ткани желудка при различных патологических состояниях являются, по-видимому, патогенетическим моментом развития рака желудка и указывают на нарушение механизма тканевого контроля пролиферации в ткани опухоли со стороны перифокальной зоны как надклеточной системы.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, система антиоксидантной защиты, доброкачественные и злокачественные опухоли желудка.

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STATE OF FREE RADICAL PROCESSES IN TISSUE OF MALIGNANT AND BENIGN GASTRIC NEOPLASMS

Yu.S. Sidorenko, E.M. Frantziyantz, S.D. Dmitrieva, O.V. Shlyakhova, N.V. Musienko, N.D. Tcheryarina, L.D. Tkalya  
*Rostov Cancer Research Institute*

The paper studies some parameters of processes of peroxide oxidation and functioning of the system of antioxidant protection (activity of catalase, superoxiddismutase, summary peroxidase activity, concentration of vitamins A and E, level of malonic dialdehyde) in biopats of tissue of pathologic foci and perifocal zone at cancer, polyps and chronic inflammation of stomach. In 75 % of cases activity and direction of free radical processes in tissue of adenomas were identical to those observed at gastric adenocarcinomas. Disturbance of natural cascade of antioxidant enzymes SOD/catalase was a common metabolic feature for chronic inflammation and adenocarcinomas. Changes of free radical processes and functioning of the system of antioxidant protection in biopats of gastric tissue at different pathologic states seem to be a pathogenetic moment of development of gastric cancer and indicate the disturbance of the mechanism of tissue control of proliferation in tumor tissue on the part of perifocal zone as supracellular system.

Key words: peroxide oxidation of lipids, antioxidant system protection, benign and malignant gastric tumors.

До настоящего времени нет единой точки зрения на природу возникновения рака желудка. Клинические наблюдения, сопоставленные с морфологическими исследованиями слизистой оболочки желудка, позволили приблизиться к пониманию тех патологических процессов, которые можно отнести к предраковым заболеваниям. В частности, это касается полипов желудка на широком основании и хронических воспалительных процессов [3]. Вместе с тем существует мнение, что злокачественные опухоли возникают без предшествующей морфологической перестройки, т.е. представление о предопухолевых состояниях ошибочно [8].

Роль дисбаланса антиоксидательных факторов и активности свободнорадикального окисления липидов в канцерогенезе не оспаривается. Поэтому более «подготовленными» к развитию злокачественных опухолей считаются органы и ткани с быстро обновляющимся клеточным составом и высоким уровнем пролиферации. К таким органам и тканям относится, в частности, слизистая оболочка желудка [6].

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение некоторых показателей активности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты в биоптатах ткани же-

лудка и соответствующей перифокальной зоны при различных патологических состояниях.

### Материал и методы

В основу исследования положен анализ клинических и лабораторных данных 74 пациентов – 53 женщин и 21 мужчины, в возрасте от 52 до 69 лет, которым было выполнено эндоскопическое исследование верхних отделов пищеварительного тракта с прицельной биопсией и морфологической оценкой полученных биоптатов. В работе использовали фиброскопы производства фирмы «Olympus» GiF-ХК-20, GiF-ХQ-40, GiF-ХРЕ.

Диагноз полип (полипоз) желудка был поставлен 40 (54,1 %) пациентам, из них одиночные полипы обнаружены у 21 пациента, до 3 – у 10 и свыше 3 – у 9 больных. Расположение полипов по отделам желудка было следующим: в кардиальном отделе – 5 %, в теле желудка – 55 %, в антральном отделе – 40 %. Все полипы были на широком основании. По Международной гистологической классификации все они были отнесены к тубулярным аденомам. Экзофитный рак был диагностирован в 19 (25,7 %) случаях и верифицирован как аденокарцинома желудка. Все образования в среднем имели размеры от 0,8 до 1,2 см. У 15 (20,3 %) пациентов было диагностировано хроническое воспаление.

В биоптатах ткани, полученных при эндоскопическом исследовании, по общепринятым методикам определяли: активность каталазы [5], суммарную пероксидазную активность (СПА) [9] в модификации [2], активность супероксиддисмутазы (СОД) [12, 20], концентрацию витаминов А и Е [11], содержание малонового диальдегида (МДА) [1].

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по t-критериям Стьюдента [4].

### Результаты исследования и обсуждение

Установлено, что в ткани злокачественной опухоли желудка уровень одного из продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – МДА

был снижен по сравнению с интактной тканью в 3,1 раза. Это сопровождалось неравномерным снижением содержания в ткани опухоли витаминов-антиоксидантов. Так, уровень витамина А был снижен на 18,6 %, витамина Е – на 41 %. Коэффициент соотношения витаминов Е/А, характеризующий способность клеточных мембран к окислению, в ткани биоптата опухоли желудка был снижен на 28,6 % (табл. 1).

Вместе с тем активность антиокислительных ферментов изменялась не однонаправленно. Так, в ткани аденокарциномы желудка активность СОД была снижена относительно показателя в интактной ткани в 2,4 раза, активность каталазы, напротив, повышена на 36,3 %, а СПА не отличалась от нормативных значений. Естественно, что коэффициенты СОД/СПА и СОД/каталаза, отражающие эффективность работы естественных каскадов антиокислительных ферментов, были снижены в биоптатах ткани в 2,3 раза и 3,5 раза соответственно по отношению к значениям в интактной ткани (табл. 1).

Изучение состояния свободнорадикальных процессов в биоптатах ткани аденом желудка показало, что содержание МДА было в 2 раза ниже, чем в интактной слизистой. При этом наблюдалось снижение уровней витаминов А и Е, а также коэффициента их соотношения на 16,3; 42,6 и 28,6 % соответственно. Активность СОД в 75 % образцов была снижена на 43,8 %, а в 25 % биоптатов тканей аденом не отличалась от показателей в интактной ткани. Активность каталазы оказалась повышенной на 36,5 % во всех исследуемых образцах ткани аденом, а СПА не претерпевала достоверных отличий, хотя и наблюдалась тенденция к ее повышению. В результате этого в 25 % образцов ткани аденом величина коэффициентов СОД/СПА и СОД/каталаза была снижена относительно показателей нормы в среднем на 30 %, в 75 % случаев – в среднем в 2,5 раза (табл. 1).

При хронических воспалительных процессах в слизистой желудка уровень содержания МДА и витаминов-антиоксидантов не отличался от показателей в интактной ткани. Не найдено достоверных отличий в уровне СПА, хотя имела место тенденция к ее повышению. Вместе с тем достоверные изменения отмечены в уровнях активности СОД и каталазы. Так, активность

Таблица 1

**Показатели свободнорадикальных процессов в биоптатах ткани желудка при различных патологических состояниях**

Показатели	Интактная ткань	Хроническое воспаление	Аденома желудка	Аденокарцинома желудка
Витамин А (ед/г)	4,3 ± 0,3	4,8 ± 0,5	3,6 ± 0,2 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05	3,5 ± 0,4 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05
Витамин Е (ед/г)	6,1 ± 0,4	5,8 ± 0,3	3,5 ± 0,4 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05	3,6 ± 0,6 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05
Коэффициент Е/А	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,15	1,0 ± 0,06 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05	1,0 ± 0,04 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,05
МДА (нмоль/г)	30,7 ± 2,6	35,8 ± 4,6	15,5 ± 1,6 <sup>1,2,3</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,05	9,9 ± 0,7 <sup>1,2,3</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01
СОД (ед. акт./г)	156,7 ± 9,2	139,0 ± 6,4 <sup>1</sup> p <sub>1</sub> <0,05	150,3 ± 3,2 <sup>2,3</sup> p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,001 88,0 ± 5,1 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01	64,5 ± 4,3 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01
Каталаза (нмоль/г)	38,4 ± 3,2	52,5 ± 3,8 <sup>1</sup> p <sub>1</sub> <0,05	52,5 ± 4,9 <sup>1</sup> p <sub>1</sub> <0,05	52,4 ± 2,6 <sup>1</sup> p <sub>1</sub> <0,05
СПА (ед. акт./г)	4,8 ± 0,5	5,3 ± 0,3	5,5 ± 0,4	4,8 ± 0,5
Коэффициент СОД/каталаза	4,2 ± 0,2	2,6 ± 0,15 <sup>1</sup> p <sub>1</sub> <0,05	2,9 ± 0,3 <sup>1,3</sup> p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,001 1,7 ± 0,2 <sup>1,2</sup> p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05	1,2 ± 0,1 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01
Коэффициент СОД/СПА	33,5 ± 5,1	26,9 ± 4,2	22,8 ± 3,1 <sup>1,3</sup> p <sub>1,3</sub> <0,05 13,6 ± 1,7 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01	14,8 ± 1,5 <sup>1,2</sup> p <sub>1,2</sub> <0,01

Примечание: <sup>1</sup> – достоверно по отношению к интактной ткани; <sup>2</sup> – достоверно по отношению к хроническому воспалению; <sup>3</sup> – достоверно по отношению к ткани аденокарциномы желудка.

СОД в ткани слизистой при хроническом воспалении снижалась на 11,3 %, а каталаза, напротив, повышалась на 36,5 %. Вследствие этого коэффициент СОД/каталаза был снижен относительно показателя в интактной ткани на 38,1% (табл. 1).

Анализируя результаты изучения биоптатов ткани желудка при различных патологических состояниях, следует отметить, что в 75 % образцов активность и направленность свободнорадикальных процессов в ткани аденомы была идентична аналогичным показателям при аденокарциномах желудка. При хроническом воспалении общей метаболической чертой с

аденокарциномами было нарушение естественного каскада антиокислительных ферментов СОД/каталаза. Эта же отличительная особенность имела место в 25 % образцов аденомы желудка, однако она сочеталась со снижением уровня МДА и витаминов-антиоксидантов.

Сопоставляя полученные результаты с современными представлениями о многоступенчатой модели гастроканцерогенеза человека, предложенной Соггеа [15], можно предположить следующую направленность развития метаболических изменений. Патологический процесс начинается с постепенного снижения активности СОД и активации каталазы (хроническое

Таблица 2

**Показатели свободнорадикальных процессов в биоптатах ткани перифокальной зоны аденомы и аденокарциномы желудка**

Показатели	Интактная ткань	Аденома желудка	Аденокарцинома желудка
Витамин А (ед/г)	4,3 ± 0,3	5,1 ± 0,3	4,5 ± 0,4
Витамин Е (ед/г)	6,1 ± 0,4	5,9 ± 0,3	5,3 ± 0,5
Коэффициент Е/А	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,15	1,2 ± 0,15
МДА (нмоль/г)	30,7 ± 2,6	31,0 ± 2,7	17,1 ± 1,3 <sup>1,2</sup> P <sub>1,2</sub> <0,05
СОД (ед.акт./г)	156,7 ± 9,2	140,6 ± 3,8	87,9 ± 6,4 <sup>1,2</sup> P <sub>1,2</sub> <0,05
Каталаза (нмоль/г)	38,4 ± 3,2	38,3 ± 4,1	52,7 ± 3,4 <sup>1,2</sup> P <sub>1,2</sub> <0,05
СПА (ед. акт./г)	4,8 ± 0,5	5,4 ± 0,4	4,5 ± 0,6
Коэффициент СОД/каталаза	4,2 ± 0,2	3,7 ± 0,4	1,6 ± 0,08 <sup>1,2</sup> P <sub>1,2</sub> <0,01
Коэффициент СОД/СПА	33,5 ± 5,1	26,9 ± 3,2	20,5 ± 3,7 <sup>1</sup> P <sub>1</sub> <0,05

Примечание: <sup>1</sup> – достоверно по отношению к интактной ткани; <sup>2</sup> – достоверно по отношению к перифокальной зоне аденомы желудка.

воспаление), что влечет за собой подавление уровня образования гидроксид-анион радикала, необходимого для контроля за пролиферативной активностью ткани путем фрагментации молекулы ДНК. В дальнейшем это, вероятно, приводит к снижению уровня и соотношения витаминов-антиоксидантов, принимающих непосредственное участие в процессах апоптоза, и подавлению образования продуктов ПОЛ, также лимитирующих деление клеток. Известно, что причинами подавления активности ПОЛ может быть модификация функционирования ферментативных систем, изменение характера работы системы, поддерживающей стационарный уровень природных антиоксидантов, состав липидов ткани, опережающих способность субстрата к окислению [7]. Такое состояние окислительного метаболизма ткани является фоном для развития дисплазии эпителиальных клеток и раннего рака желудка.

Основываясь на принципе тканевой теории злокачественного роста, согласно которой развитие раковой опухоли происходит в результате нарушения механизма тканевого контроля пролиферации как надклеточной системы, мы сочли целесообразным изучить состояние свободнорадикальных процессов в перифокальной зоне доброкачественных и злокачественных опухолей желудка. Основанием для исследования явился и тот факт, что выявить причину нарушения

тканевой системы регуляции можно исходя из представления о механизме устойчивости гомеостатических систем при тех условиях и факторах, при которых происходит их нарушение [11].

Установлено, что в перифокальной зоне аденом желудка содержание МДА достоверно не отличалось от показателя в интактной ткани, тогда как в перифокальной зоне злокачественной опухоли его уровень был снижен на 44,1 % (табл. 2). Уровень витаминов-антиоксидантов А и Е, коэффициент их соотношения, а также СПА в перифокальной зоне аденом и аденокарцином желудка достоверно не отличались от показателей в интактной ткани.

Вместе с тем активность СОД в перифокальной зоне аденом была снижена относительно интактной ткани на 10,3 %, а в перифокальной зоне злокачественной опухоли – на 43,9 %. Активность каталазы в перифокальной зоне аденом не отличалась от показателя в интактной ткани, тогда как в перифокальной зоне аденокарцином она была повышена на 37,1 % и практически не отличалась от показателя в самой опухоли. Естественно, что коэффициент СОД/каталаза был снижен в последнем случае в 2,6 раза относительно нормативных значений и достоверно не отличался от показателя в ткани аденокарцином желудка (табл. 2).

Возможно, механизм изменения активности ферментов следует искать в активации

протеолитических ферментов, способствующих изменению работы генов, их кодирующих, так как известно, что активность СОД регулируется при протеолитическом процессинге [21]. Другие механизмы, влияющие на активность, в частности, СОД, могут быть связаны либо с точечными мутациями, изменяющими частоты сайтов действия, либо с метилированием внешнего цитозина в полипептидной цепи [14]. Во всяком случае диссонанс в работе естественного каскада антиокислительных ферментов приводит к нарушению физиологического ОН-радикала, имеющего отношение, как известно, к процессам пролиферации и дедифференцировки. Известно, что эти процессы в эпителиальных клетках зависят от ядерных рецепторов ретиноидов и мембранных рецепторов, которые активируют первые [19]. Ретиноиды, в частности витамин А, контролируют рост и цикл деления клеток рака эпителия, поэтому недостаточность этого витамина свидетельствует о повышенной их пролиферации с нарушением дифференцировки [13, 18]. С другой стороны, известно, что уровень содержания витаминов А и Е определяет способность клеток к апоптозу, а их недостаток, что и показано в нашем исследовании, снижает уровень апоптоза вплоть до его отмены [16, 17]. Изменения свободнорадикальных процессов и функционирование системы антиокислительной защиты в биоптатах ткани желудка при различных патологических состояниях являются, по-видимому, патогенетическим моментом развития рака желудка и указывают на нарушение механизма тканевого контроля пролиферации в ткани опухоли со стороны перифокальной зоны как надклеточной системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
2. Внуков В.В. Железосодержащие белки и протеолитическая активность в сыворотке крови при гипероксии и защитном действии мочевины: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1979.
3. Зырянов Б.Н., Коломиец Л.А., Тузигов С.А. Рак желудка. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1998. 527 с.
4. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. М., 1990.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–18.
6. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы: КазНТУ, 2003. 808 с.
7. Пальмина Н.П. Антиоксиданты, тироксидное окисление липидов, протеинкиназа С и рак // Юбилейная конференция, посвященная 85-летию академика Н.М. Эмануэля «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии и биологии». М., 2000. С. 127–130.
8. Пожарисский К.М. Современные представления о предраке. Общая онкология. Л., 1989. С. 193–214.
9. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике. М., 1969. С. 349–351.
10. Черезов А.Е. Общая теория рака: тканевой подход. М.: Изд-во МГУ, 1997. 252 с.
11. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. 1984. № 6. С. 362–365.
12. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971. Vol. 44. P. 276–281.
13. Bhattacharya P.C. Vitamin A analogues and cancer // Curr. Sci. 1996. Vol. 71, № 7. P. 501–502.
14. Bianchi M.S., Bianchi N.O., Bolzan A.D. Superoxide dismutase activity and superoxide dismutase – I gene methylation in normal and tumoral human breast tissues // Cancer Genet. Cytogenet. 1992. Vol. 59, № 1. P. 26–29.
15. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention // Cancer Rev. 1992. № 52. P. 6735–6740.
16. Holmes W.F., Dawson M.I., Soprano D.R., Soprano K.J. Induction of apoptosis in ovarian carcinoma cells by retinoic acid receptors // J. Cell. Physiol. 2000. Vol. 185, № 1. P. 61–67.
17. Kazue S. et al. Induction of apoptosis by cooperative action of vitamins C and E // Anticancer Res. 1998. Vol. 18, № 6a. P. 4371–4376.
18. Mira-y-Lopes R. et al. Retinol conversion to retinoic acid is impaired in breast cancer cell lines relative to normal cells // J. Cell. Physiol. 2000. Vol. 185, № 2. P. 302–309.
19. Offerdinger M., Schneider S.M., Huber H., Grunt T.W. Retinoids control the expression of c-erbB receptors in breast cancer cells // Biochem. And Biophys. Res. Commun. 1998. Vol. 251, № 3. P. 907–913.
20. Reiner F. Tnsymatic and nonensymatic assay of superoxide dismutase // Biochemie. 1975. Vol. 57. P. 657–660.
21. Sandstrom J., Caresson L., Marklund S.L., Endlund T. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase C and formation of variants with reduced heparin affinity // J. Biol. Chem. 1992. Vol. 267, № 25. P. 18205–18209.

Поступила 1.04.08