



УДК 612.015: 616.33-006.6

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В ТКАНИ ОПУХОЛИ И ЕЕ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА РАЗЛИЧНОГО ГИСТОТИПА

Е.В. ШАЛАШНАЯ
И.А. ГОРОШИНСКАЯ
Ю.А. ГЕВОРКЯН
М.Л. МАЛЕЙКО
Е.М. НЕПОМНЯЩАЯ
П.С. КАЧЕСОВА
И.В. НЕСКУБИНА
Е.И. СУРИКОВА
Л.А. НЕМАШКАЛОВА

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

e-mail:rnioi@list.ru

Проведено сравнительное исследование системы глутатиона в образцах тканей опухоли и ее перифокальной зоны при перстневидноклеточном раке и аденокарциноме желудка. Выявлены различия в функционировании данной антиоксидантной системы в опухолях и прилегающих к ним тканях при раке желудка различного гистогенеза, что может послужить основой для разработки новых методов лечения.

Ключевые слова: перстневидноклеточный рак желудка, аденокарцинома желудка, перифокальная зона, система глутатиона.

Введение. Рак желудка – одна из наиболее частых злокачественных опухолей человека, занимающая на данный момент второе место в структуре онкологической заболеваемости [1]. В последние годы в литературе появляются сообщения об увеличении доли перстневидноклеточного рака среди всех форм рака желудка. Перстневидноклеточный рак желудка считается прогностически неблагоприятной формой с плохими отдаленными результатами лечения. Однако существует неоднозначность мнений в оценке злокачественности данной морфологической формы рака [2]. В настоящее время не вызывает сомнений патогенетическая роль свободнорадикальных процессов в развитии злокачественных новообразований [3, 4, 5]. Наряду с этим, не менее существенны процессы, происходящие в непосредственной близости от опухоли. Тканевое окружение влияет на функции опухолевых клеток, стромы опухоли, продукцию энзимов деградации и отличается большим разнообразием [6]. Важная роль в изменении гомеостаза организма отводится нарушениям в антиоксидантной системе защиты, частью которой является система глутатиона, образующая вторую линию антиоксидантной защиты клеток. Помимо этого глутатион участвует во многих внутриклеточных процессах, таких как синтез белка, регуляция и экспрессия генов клеточного цикла, детоксикация ксенобиотиков [7]. В связи с вышеизложенным, целью работы явилось сравнительное исследование системы глутатиона в ткани опухоли и перифокальной зоны перстневидноклеточного рака желудка и аденокарциномы желудка для выявления патогенетических особенностей течения злокачественного процесса.

Материалы и методы. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) [8], глутатионредуктазы (ГР) [9], глутатионтрансферазы (ГТ) [10] и содержание восстановленного глутатиона [10] определяли в образцах опухоли и ее перифокальной зоны, взятых во время операции у 21 больного раком желудка. При проведении гистологического анализа операционного материала у 13 больных был верифицирован перстневидноклеточный рак желудка, у 8 больных – аденокарцинома желудка. В качестве контроля были исследованы здоровые ткани желудка, взятые у 12 случайно погибших людей. Содержание глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов определяли в 10% гомогенате в пересчете на мг белка. Содержание белка в исследуемых тканях определяли по методу Лорури. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 6.0».

Результаты и их обсуждение. При изучении системы глутатиона в опухолевых тканях желудка различного гистотипа было выявлено, что содержание восстановленного глутатиона существенно отличалось от значений в нормальных тканях желудка (табл. 1). В ткани перстневидноклеточного рака желудка уровень восстановленного глутатиона был на 78% выше, чем в контроле, а при аденокарциноме – снижен на 43% соответственно. При этом содержание восстановленного глутатиона в ткани перстневидноклеточного рака было в 3 раза выше, чем в ткани аденокарциномы. В то же время активность ГР, фермента, участвующего в восстановлении окисленного глутатиона, не отличалась от значений в интактных желудках как при перстневидноклеточном раке, так и при аденокарциноме.



Таблица 1

**Содержание глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов
в ткани опухоли и ее перифокальной зоне
при перстневидноклеточном раке и аденокарциноме желудка**

Группы	Восстановленный глутатион (мкм/мг белка)	Глутатион-пероксидаза (МЕ/мг белка)	Глутатион-редуктаза (МЕ/мг белка)	Глутатион-трансфераза (МЕ/мг белка)
Интактная ткань желудка n=12	36,77±7,23	317,6±42,8	16,3±1,8	70,87±8,0
Опухолевая ткань ПКРЖ n=13	66,13±9,58 P<0,05	614,9±3,6 P<0,01	19,36±1,52 P>0,1	105,98±7,23 P<0,05
Перифокальная зона ПКРЖ n=13	26,3±4,98 P>0,1 P _{оп} <0,01	449,4±56,4 P<0,05 P _{оп} >0,1	22,82±2,45 P<0,05 P _{оп} >0,1	95,21±6,84 P<0,05 P _{оп} >0,1
Опухолевая ткань аденокарциномы n=8	21,05±2,59 P<0,05 P ₁ <0,01	704±64,1 P<0,001 P ₁ >0,1	19,94±1,99 P>0,1 P ₁ >0,1	102,26±11,0 P<0,05 P ₁ >0,1
Перифокальная зона аденокарциномы n=8	11,63±1,08 P<0,05 P _{оп} <0,05 P ₂ <0,01	417,9±61,8 P>0,1 P _{оп} <0,01 P ₂ >0,1	16,51±1,97 P>0,1 0,1>P _{оп.п.} >0,05 0,1>P ₂ >0,05	83,91±10,76 P>0,1 P _{оп} >0,1 P ₂ >0,1

Примечание. p – достоверность различий по сравнению со значениями в ткани интактных желудков, p_{оп} – достоверность различий между значениями в ткани опухоли и перифокальной зоны, p₁ – достоверность различий между значениями в ткани опухоли при ПКРЖ и аденокарциноме желудка, p₂ – достоверность различий между значениями в ткани перифокальной зоны опухоли при ПКРЖ и аденокарциноме желудка.

Активности глутатионзависимых пероксидаз были повышены в образцах опухолей обоих гистотипов. Так, активность ГПО в ткани аденокарциномы желудка на 121,7% превышала контрольные величины, а в ткани перстневидноклеточного рака желудка – на 93,6%. Активность ГТ в ткани перстневидноклеточного рака желудка превышала значения в интактных тканях на 49,5%, а в ткани аденокарциномы на 44,3%. Достоверных отличий между активностями глутатионзависимых ферментов в опухолях различных гистотипов не было выявлено. Таким образом, нами обнаружены разнонаправленные изменения в содержании восстановленного глутатиона и однонаправленные – в активности глутатионзависимых ферментов в опухолевых тканях при перстневидноклеточном раке и аденокарциноме желудка.

При изучении системы глутатиона в перифокальных зонах опухолей желудка обоих гистотипов нами были выявлены следующие особенности. В перифокальной зоне аденокарциномы показатели активности глутатионзависимых ферментов не отличалась от значений в интактных желудках, и оказались ниже, чем в опухоли. Иная направленность имела место в перифокальной зоне перстневидноклеточного рака желудка: показатели активности глутатионзависимых ферментов достоверно не отличались от соответствующих значений в опухолевой ткани – они были повышены относительно контрольных величин. Уровень восстановленного глутатиона в перифокальных зонах оказался ниже, чем в соответствующих опухолевых тканях: при перстневидноклеточном раке на 60,2%, а при аденокарциноме – на 44,8%. В то же время в перифокальной зоне перстневидноклеточного рака уровень восстановленного глутатиона не отличался от значений в интактных желудках, а в перифокальной зоне аденокарциномы был на 68,7% ниже контрольных величин. Сопоставив данные, полученные при изучении системы глутатиона в перифокальных зонах опухолей обоих гистотипов, были выявлены достоверные различия в содержании восстановленного глутатиона – при аденокарциноме он был на 55,8% ниже, чем при перстневидноклеточном раке. Это может быть обусловлено более низкой активностью ГР в перифокальной зоне аденокарциномы – на 27,7% относительно значений в перифокальной зоне перстневидноклеточного рака.

Учитывая полученные результаты можно сказать, что нами были выявлены глубокие нарушения в функционировании системы глутатиона как в опухолевой ткани, так и в перифокальной зоне обоих гистотипов рака желудка. Отмечалась высокая активность глутатионзависимых пероксидаз – ГП и ГТ в опухолевой ткани, а при перстневидноклеточном раке и в ее перифокальной зоне. При этом при аденокарциноме желудка происходило истощение уровня восстановленного глута-



тиона как в ткани, прилегающей к опухоли, так и в самой опухоли. В то же время при перстневидноклеточном раке, несмотря на высокую активность глутатионзависимых пероксидаз, субстратом для которых служит восстановленный глутатион, было выявлено резкое повышение его содержания в опухолевой ткани. Мы полагаем, что накопление данного антиоксиданта происходит не за счет восстановления окисленного глутатиона глутатионредуктазой, а очевидно путем его транспорта через клеточные мембраны и ресинтеза внутри клетки посредством глутамильного цикла. Известно, что одним из механизмов возникновения устойчивости к противоопухолевой терапии является гиперэкспрессия членов семейства изоэнзимов глутатионтрансфераз, которые отвечают за конъюгирование глутатиона с различными ксенобиотиками и могут играть роль в детоксикации [11]. При этом на резистентность опухолевых клеток к химиотерапии оказывает влияние сочетание повышенной активности ГТ и высокого уровня восстановленного глутатиона [12]. Полученные нами данные могут свидетельствовать о большей устойчивости к химиотерапевтическому лечению перстневидноклеточного рака, чем аденокарциномы желудка. Кроме того, считается, что восстановленный глутатион обладает защитным действием в отношении репликативной системы клеток, регулируя тем самым их пролиферативную активность [13]. Возможно, что увеличение уровня данного антиоксиданта в ткани перстневидноклеточного рака желудка необходимо для поддержания повышенной пролиферативной активности опухолевой ткани данного гистотипа, поскольку известно, что перстневидноклеточный рак отличается высокой частотой имплантационного метастазирования.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии различий в функционировании системы глутатиона в зависимости от типа тканевой организации опухоли. Выявленные нами изменения в работе данной антиоксидантной системы могут послужить предпосылкой для разработки новых подходов к терапии больных перстневидноклеточным раком желудка.

Литература

1. Чиссов, В.И. Онкология (национальное руководство) / В.И. Чиссов, М.А. Давыдова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1060 с.
2. Неред, С.Н. Перстневидноклеточный рак желудка: клинико-морфологические аспекты, результаты хирургического лечения и прогноз / С.Н. Неред, А.А. Клименко, И.С. Стилиди и соавт. // Вопросы онкологии. – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 294-300.
3. Франциянц, Е.М. Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни / Е.М. Франциянц, Ю.С. Сидоренко, Л.Я. Розенко. – Ростов н/Д : РГУ, 1995. – 176 с.
4. Зенков, Н.К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М. : Наука / Интерпериодика, 2001. – 343 с.
5. Кондакова, И.В. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / И.В. Кондакова. – Томск, 2005. – 29 с.
6. Бережная, Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Клетки и цитокины – участники воспаления / Н.М. Бережная // Онкология. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 6-17.
7. Горожанская, Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях / Э.Г. Горожанская // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28-44.
8. Моин, В.П. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.П. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724.
9. Юсупова, А.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы в эритроцитах / А.Б. Юсупова // Лабораторное дело. – 1989. – № 4. – С. 19-21.
10. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : метод. рекомендации / А.В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина. – СПб. : Фолиант, 2000. – 104 с.
11. Курпешев, О.К. Механизмы развития и пути преодоления химиорезистентности опухолей / О.К. Курпешев, А.Ф. Цыб, Ю.С. Мардынский, Б.А. Бердов // Российский онкологический журнал. – 2002. – № 4. – С. 48-52.
12. Горожанская, Э.Г. Роль глутатионзависимых пероксидаз в регуляции утилизации липопероксидов в злокачественных опухолях / Э.Г. Горожанская // Биохимия. – 2001. – Т. 66, вып. 2. – С. 273-278.
13. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и соавт. – М. : Слово, 2006. – 556 с.



COMPARATIVE STUDY OF GLUTATHIONE SYSTEM IN TUMOUR TISSUE AND ITS PERIFOCAL ZONE AT GASTRIC CANCER OF DIFFERENT HISTOLOGICAL TYPES

**E. V. SHALASHNAYA
I. A. GOROSHINSKAYA
YU. A. GEVORKYAN
M. L. MALEIKO
E. M. NEPOMNYASHAYA
P. S. KACHESOVA
I. V. NESKUBINA
E. I. SURIKOVA
L. A. NEMASHKALOVA**

Rostov Cancer Research Institute

e-mail: rmioi@list.ru, iagor17@mail.ru

Comparative study of glutathione system in samples of tumour tissue and its perifocal zone at gastric signet ring cell cancer and adenocarcinoma has been carried out. Differences in functioning of this antioxidant system in tumours and adjacent tissues at gastric cancer of various histogenesis have been revealed; this fact may serve as the base for developing new methods of treatment.

Keywords: gastric signet ring cell cancer, gastric adenocarcinoma, perifocal zone, glutathione system