

Типичны медиастинальная лимфоаденопатия, лимфоцитарная инфильтрация легких, бронхов и плевры. С развитием опухолевого процесса специфические лейкоэмические поражения прогрессируют, вызывая нарушения вентиляционной функции легких и дренажной функции бронхов. Применение рентгенофункциональных методов исследования позволяет существенно расширить диапазон диагностических тестов для регистрации регионарных (локальных) вентиляционных нарушений, являющихся факторами риска развития пневмоний, осложняющих течение основного заболевания. Это, в свою очередь, дает возможность более оперативно и целенаправленно проводить лечебные и реабилитационные мероприятия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bloomfield C.D., Foon K.A., Lemine E.G. Basic principles and clinical management of cancer. New York 1993. 459–468.
2. Montserrat E. Chronic lymphoproliferative disorders. Curr. Opin. Oncol. 1997; 1: 34–41.
3. Vaiman E., Odeh M., Attias D. et al. T-cell chronic lymphocytic leukaemia with pulmonary involvement and relapsing BOOP. Eur. Respir. J. 1999; 14 (2): 471–475.
4. Волкова М.А. Амбулаторное лечение и диспансеризация больных хроническими лейкозами. М: Медицина; 1979.
5. Воробьев А.И., Бриллиант М.Д., Кременецкая А.М. и др. Лимфопролиферативные заболевания. В кн.: Воробьев А.И.

- (ред.). Руководство по гематологии. 3-е изд. М.: Ньюдиамед; 2003; т. 2: 40–96.
6. Oikonomou A., Muller N.L., Nantel S. Radiographic and high-resolution CT findings of influenza virus pneumonia in patients with hematologic malignancies. Am. J. Roentgenol. 2003; 181 (2): 507–518.
 7. Milkowski D.A., Worley B.D., Morris M.J. Richter's transformation presenting as an obstructing endobronchial lesion. Chest 1999; 116 (3): 832–837.
 8. Городецкий В.М. Осложнения противоопухолевой терапии. Гематол. и трансфузиол. 1998; 1: 11–15.
 9. Горелов В.Г., Городецкий В.М., Мирзоян Э.Э. и др. Острая дыхательная недостаточность при гемобластозах: типы диффузных поражений легких. Тер. арх. 1995; 7: 52–56.
 10. Ландышев Ю.С., Ленишин А.В. Руководство по пульмонологии. Благовещенск: ООО Издат. компания "РИО"; 2003.
 11. Ленишин А.В., Вознесенский С.С. Опыт использования зонального рентгеноденситометра "Денсиграф-2" для оценки регионарной вентиляции легких. В кн.: Материалы Дальневосточной науч.-практ. конф., посвящ. столетию открытия рентгеновских лучей. Владивосток; 1995. 87–90.
 12. Coxson H.O., Rogers R.M., Whittall K.P. et al. A quantification of lung surface area in emphysema using computed tomography. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999; 159: 851–857.
 13. Gevenois P.A., Yernault J.C. Can computed tomography quantify pulmonary emphysema? Eur. Respir. J. 1995; 8: 843–851.
 14. Kauczor H.U., Heussel C.P., Fischer B. et al. Assessment of lung volumes using helical CT at inspiration and expiration: comparison with pulmonary function tests. Am. J. Roentgenol. 1998; 171: 1091–1096.

Поступила 13.01.04

© МАЦКЕВИЧ Г.Н., 2004

УДК 616.24-006-07:616-008.939.15-074

Г.Н.Мацкевич

ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕЙ ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ, АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЛЕГКИХ

Институт хирургии им. А.В.Вишневского, Москва

INVESTIGATION OF TOTAL LIPID PEROXIDATION LEVEL, ANTIOXIDATIVE ACTIVITY LEVEL AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN MALIGNANT AND BENIGN LUNG NEOPLASM SAMPLES

G.N.Matskevich

Summary

Total lipid peroxidation level (TLP), antioxidative activity level (AOA) and antioxidant enzyme activity (superoxide dismutase, catalase) were studied in malignant and benign lung neoplasm samples. We examined 65 patients with malignant tumors and 30 ones with benign tumors. The antioxidant enzyme activity was reduced, the TLP level was increased and the AOA was inhibited in malignant tumors. Intensity of these disorders depended on histological type of the tumor and grade of malignancy: they were most severe in adenocarcinoma and mildest in bronchioloalveolar carcinoma.

Резюме

Исследовали общее перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиокислительную активность (АОА) и активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза) в тканях злокачественных и

доброкачественных новообразований легких. Всего были обследованы 65 больных со злокачественными новообразованиями и 30 — с доброкачественными. Обнаружили снижение активности антиоксидантных ферментов, повышение ПОЛ и подавление АОА в злокачественных опухолях, выраженность которых зависела от гистологической характеристики и малигнантиности опухоли: наибольшие изменения обнаружены в ткани аденокарциномы, а наименьшие — в ткани бронхиолоальвеолярного рака.

В развитии канцерогенеза решающую роль играет повреждение ДНК, поэтому вполне допустимо, что любой агент, способный вступать в реакцию с ДНК и химически модифицировать ее, может быть канцерогеном. Повреждение ДНК, наблюдаемое при радиационном и химическом канцерогенезе, сопровождается образованием высокореактивных форм кислорода, которые стимулируют инициацию и промотирование опухолевого процесса [1, 2].

Свободные радикалы инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) клеточных мембран, которое приводит к их повреждению [3, 4].

В раковых клетках имеет место снижение активности антиоксидантных ферментов, которое приводит к накоплению свободных радикалов и возрастанию их деструктивного действия [4, 5]. Необходимо отметить, что многие антираковые препараты обладают антиоксидантными свойствами, а антиканцерогенный эффект антиоксидантов, в свою очередь, был многократно продемонстрирован на разных моделях химического канцерогенеза [6, 7].

В работах, посвященных изучению антиоксидантных ферментов и липидной перекисидации в опухолях легких, проводится их сравнительное исследование в тканях злокачественных новообразований и здорового легкого, но не выявлены их особенности в зависимости от гистологической характеристики и степени малигнантиности опухоли. Задачей настоящей работы и явилось изучение антиоксидантной активности, липидной перекисидации и антиоксидантных ферментов в ткани злокачественных новообразований легких, различных по своей малигнантиности. В литературе мы не обнаружили исследований, проведенных в этом аспекте.

Материал и методы

Объектом исследований служил операционный материал — ткань злокачественных и доброкачественных новообразований легких, удаленных в процессе оперативного вмешательства.

В серии исследований активности антиоксидантных ферментов были обследованы 72 пациента, подвергшихся оперативным вмешательствам, из них 52 пациента со злокачественными новообразованиями (плоскоклеточный рак — 32, аденокарцинома — 12, бронхиолоальвеолярный рак (БАР) — 8), 47 мужчин и 5 женщин в возрасте 42–78 лет. Были также обследованы 20 больных с доброкачественными новообразованиями (туберкулома — 10, гамартома — 10), 12 мужчин и 8 женщин в возрасте 34–59 лет. В качестве контроля был использован патологоанатомический материал от здоровых лиц, погибших в ре-

зультате несчастных случаев, полученный из морга Института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского через 12–24 ч после смерти.

В серии исследований ПОЛ и АОА были обследованы 23 пациента со злокачественными и доброкачественными новообразованиями. Всего были исследованы 13 образцов злокачественных новообразований легких (3 образца БАР, 3 — аденокарциномы и 7 — плоскоклеточного рака) и 10 образцов доброкачественных новообразований (гамартома — 3, туберкулома — 2, хондрома — 3, невринома и загридинный зоб — по 1 образцу). По возрасту и полу больные распределялись следующим образом: со злокачественными новообразованиями — 10 мужчин и 3 женщины в возрасте 50–70 лет, с доброкачественными новообразованиями — 5 мужчин и 5 женщин в возрасте 47–72 лет.

Сразу после забора образцы ткани замораживали и хранили при -20°C . Перед исследованием готовили 10%-ный гомогенат: ткани измельчали и гомогенизировали в физиологическом растворе на холоде в гомогенизаторе Поттера–Эвельема, после чего пробы центрифугировали 15 мин при 1 500 об./мин.

В супернатанте определяли активность антиоксидантных ферментов Cu, Zn — супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) и каталазы (КАТ, КФ 1, 11.1.6), а также ПОЛ и АОА.

Активность СОД, дисмутирующей супероксиданионрадикал с образованием перекиси водорода, определяли по методу, описанному *Y. Sun et al.* [8], активность КАТ, разрушающей пероксид водорода, — *Королюк М.А. и соавт.* [9]. Активность ферментов выражали в условных единицах (СОД) и микроединицах (КАТ), пропорциональных степени снижения оптической плотности в результате ферментативной реакции в расчете на 1 мг белка. В случае СОД — это степень ингибирования восстановления нитросинего тетразолия, в случае КАТ — степень разрушения окрашенных комплексных соединений перекиси водорода с молибденом.

Общую липидную перекисидацию определяли в тканях по модифицированной нами методике *L.C. Trost, K.B. Wallace*, которые использовали прооксидантные свойства миоглобина [10]. Миоглобин Fe^{2+} стимулирует ПОЛ за счет способности связываться с молекулярным кислородом с образованием 6-оксимиоглобина, супероксидных и гидроксильных радикалов жирных кислот. В свою очередь, супероксидный радикал разрывает двойные связи полиненасыщенных жирных кислот с образованием соединений, дающих окраску с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). В качестве мишени действия супероксида (O_2) и других радикалов использовали арахидоновую кислоту, содер-

жащую 4 двойные связи. Кроме того, окисленный гемоглобин образует связанный с гемом белок (аддукт Мв-Н), который способен катализировать оксидазные реакции даже в присутствии таких восстановителей как O_2 [11]. Дополнительное преимущество данного метода состоит в том, что на миоглобин-стимулируемое ПОЛ не оказывают влияние СОД, КАТ и другие антиоксиданты. В качестве индикатора ПОЛ мы использовали ТБК-тест и регистрировали ПОЛ по измерению содержания ТБК-позитивных веществ при длине волны 532 нм в присутствии бутилированного гидрокситолуола, который повышает чувствительность и интенсивность цветообразования гидроперекисей согласно *M.Borhan et al.* [12].

Расчет полученных данных проводили с помощью формулы, предложенной в работе *И.А.Волчегорского и соавт.* [13]. АОА определяли по методу, описанному *Г.И.Клебановым и соавт.* [14] и *R.Ramakrishna, S.Mahadevan* [15]. Оба показателя выражали в процентах.

Все проведенные исследования были продублированы и статистически обработаны по Стьюденту.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные по исследованию активности антиоксидантных ферментов в злокачественных и доброкачественных новообразованиях легких. Из этих данных следует, что в ткани аденокарциномы и плоскоклеточного рака, по сравнению с контролем, имеет место статистически достоверное снижение активности антиоксидантных ферментов: СОД — на 40,2 % и 41,2 %, а КАТ — на 60,6 % и 35,4 % соответственно. При этом в ткани БАР прослеживается определенная тенденция к снижению, по сравнению с контролем, активности обоих исследованных ферментов. В то же время, в доброкачественных новообразованиях наблюдается четкая тенденция к возрастанию активности КАТ (особенно в ткани туберкуломы), одновременно в ткани гамартомы имеет место незначительное снижение активности СОД, в то время как в ткани туберкуломы активность СОД практически не изменена.

Таблица 1

Активность супероксиддисмутазы и каталазы в опухолях легких ($M \pm m$)

Объект исследования	СОД ед / мг	Каталаза мкед / мг
Контроль	86,887 $\pm$ 3,372	3,673 $\pm$ 0,322
Плоскоклеточный рак	51,116 $\pm$ 3,708*	2,373 $\pm$ 0,448*
Аденокарцинома	51,989 $\pm$ 4,350*	1,449 $\pm$ 0,320*
Бронхоальвеолярный рак	74,084 $\pm$ 5,418	2,408 $\pm$ 0,602
Туберкулома	89,447 $\pm$ 11,589	5,149 $\pm$ 1,575
Гамартома	71,613 $\pm$ 7,386	4,141 $\pm$ 1,907

Примечание: * — данные статистически достоверны, по отношению к соответствующим показателям в контроле.

Таблица 2

ПОЛ и общая АОА в ткани злокачественных и доброкачественных новообразований легких ($M \pm m$, %)

Ткань	ПОЛ	АОА
Злокачественные новообразования		
Плоскоклеточный рак	169,98 $\pm$ 38,80	-33,86 $\pm$ 19,74
Аденокарцинома	166,67 $\pm$ 22,11	-69,66 $\pm$ 20,28
БАР	18,93 $\pm$ 2,44	13,54 $\pm$ 6,86
Доброкачественные новообразования		
	29,82 $\pm$ 8,46	35,23 $\pm$ 10,00

в тканях доброкачественных новообразований наблюдается четкая тенденция к возрастанию активности КАТ (особенно в ткани туберкуломы), одновременно в ткани гамартомы имеет место незначительное снижение активности СОД, в то время как в ткани туберкуломы активность СОД практически не изменена.

Результаты определения ПОЛ и АОА в ткани злокачественных и доброкачественных новообразований представлены в табл. 2.

Показано, что в большей части злокачественных новообразований уровень ПОЛ был выше, чем в доброкачественных. При этом наблюдалась зависимость ПОЛ от гистологической характеристики и степени злокачественности опухоли.

Достаточно высокий уровень ПОЛ (более чем в 5,5 раз выше, по сравнению с доброкачественными новообразованиями) был обнаружен в тканях аденокарциномы и плоскоклеточного рака, в ткани БАР он был даже ниже, чем в тканях доброкачественных новообразований.

В отдельной серии экспериментов исследовали показатели ПОЛ в ткани плоскоклеточного рака из участков паренхимы легкого, находившихся на расстоянии 3–4 см от опухоли (пограничная ткань). Обнаружено, что в ткани паренхимы легкого, пограничной с опухолью, но не содержащей атипичных клеток, уровень ПОЛ (52,10 $\pm$ 13,64 %) был существенно ниже (более чем на 70 %), чем в ткани самой опухоли (196,64 $\pm$ 35,75 %), но значительно выше (на 74,7 %), чем в тканях доброкачественных новообразований.

При исследовании АОА (см. табл. 2) было обнаружено, что в большей части злокачественных новообразований значение АОА представлено отрицательными величинами. Это обусловлено преобладанием в раковой опухоли ПОЛ, которое полностью подавляет АОА. При этом, как и в случае с определением ПОЛ, наблюдается отчетливая зависимость величины исследуемых показателей от гистологической характеристики и степени малигнантиности опухоли: в ткани аденокарциномы, склонной к метастазированию и ус-

тойчивой к химиотерапии, уровень ПОЛ перекрывает АОО в наибольшей степени, в то время как в ткани плоскоклеточного рака ПОЛ перекрывает АОО в меньшей степени. Ткань БАР обладает АОО (АОО представлена положительными величинами), хотя и невысокой (на 61,6 % меньше, чем в ткани доброкачественных новообразований). Следует отметить большой разброс данных по АОО в ткани БАР, однако в каждом случае показатели были представлены положительными величинами, которые были ниже, чем при доброкачественных новообразованиях.

Таким образом, обнаружена зависимость уровня ОЛП и АОО от гистологических особенностей и степени злокачественности опухолей легких.

Аденокарцинома обладает высокой степенью малигнантиности [16], она способна к активному метастазированию и достаточно устойчива к химиотерапии: при исследовании была обнаружена наибольшая степень подавления АОО в клетках этого вида опухоли.

БАР в процессе роста не разрушает тканей легких, а только сдавливает их; кроме того, он чувствителен к химиотерапии и имеет невысокий уровень ПОЛ (даже ниже, чем в доброкачественных новообразованиях), при этом обладает АОО, которая, тем не менее, в 2,6 раза ниже, чем в доброкачественных образованиях.

Следует обратить внимание на сходство в направленности изменений ПОЛ и АОО в зависимости от вида злокачественной опухоли и интенсивности изменений активности антиоксидантных ферментов в тканях раковых опухолей: выявлено наибольшее снижение активности КАТ в ткани аденокарциномы и незначительное снижение активности антиоксидантных ферментов в ткани БАР.

Наконец, вызывает большой интерес тот факт, что участки тканей легкого, находящиеся на расстоянии 3–4 см от злокачественного новообразования, но не содержащие атипичных клеток, обладают уровнем ПОЛ, хотя и более низким, чем в самой опухоли, но на 74 % превышающим соответствующий показатель в тканях доброкачественных новообразований. Это согласуется с полученными нами ранее данными [17] о наличии в таких тканях изменения активности ряда ферментов обмена глутатиона (правда, выраженной в несколько меньшей степени, чем в ткани самой злокачественной опухоли), аналогично тому, что имело место в раковых клетках. Таким образом, под-

тверждается, что пограничные с опухолью ткани еще до появления в них морфологических изменений уже предрасположены к развитию опухолевого процесса, и это необходимо учитывать при решении вопроса об объеме оперативного вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kensler T.W., Egner P.A., Taffe B.G., Trush M.A. Role of free radicals in tumor promotion and progression. *Progr. Clin. Biol. Res.* 1989; 298: 233–248.
2. Marnett L.J. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21 (3): 361–370.
3. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита. Пермь; 1992.
4. Halliwell B., Gutteridge J.H. Free radicals in biology and medicine. Oxford; 1989. 58–188; 366–394.
5. Guner G., Islekel H., Oto O. et al. Evaluation of some antioxidant enzymes in lung carcinoma tissue. *Cancer Lett.* 1996; 103 (2): 233–239.
6. Oberley L.W., Oberley T.D. Role of antioxidant enzymes in the cancer phenotype. In: Clerch L.B., Massaro D.J., eds. Oxygen, gene expression, and cellular function. New York: Dekker; 1997. 279–307.
7. Werts E.D., Gould M.N. Relationships between cellular superoxide dismutase and susceptibility to chemically induced cancer in the rat mammary gland. *Carcinogenesis* 1986; 7 (7): 1197–1201.
8. Sun Y., Oberley L.W., Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988; 34 (3): 497–500.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело 1988; 1: 16–18.
10. Trost L.C., Wallace K.B. Stimulation of myoglobin-dependent lipid peroxidation by adriamycin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 204 (1): 23–29.
11. Vuletic J.L., Osawa Y., Aviram M. Enhanced lipid oxidation by oxidatively modified myoglobin: role of protein-bound heme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 269 (3): 647–651.
12. Borhan M., Shewfelt R.L., Hultin H.O. Sarcoplasmic reticulum from flounder muscle having improved lipid peroxidative activity. *Analyt. Biochem.* 1984; 137 (1): 58–65.
13. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. и др. Челябинск; 2000. 60–61.
14. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. Лаб. дело 1988; 5: 59–62.
15. Ramakrishna R., Mahadevan S. Comparison of the protein components of hen's egg. Yolk low density fraction of granules (LDFG) and low density fraction (LDF). *Curr. Sci.* 1977; 46 (17): 604–607.
16. Трахтенберг А.Х., Чиссов В.И. Клиническая онкопульмонология. М.: ГЭОТАР Медицина; 2000.
17. Короткина Р.Н., Мацкевич Г.Н., Панова Н.В. и др. Исследование ферментов обмена глутатиона в злокачественных новообразованиях легких и средостения. *Рос. онкол. журн.* 1999; 2: 21–24.

Поступила 09.01.04