DOI: 10.26435/neoplasm.v9i3.225

С.А. Зуйков, И.И. Зинкович

Влияние старения на окислительный потенциал плазмы крови у онкологических больных

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Цель: изучить состояния про- и антиоксидантной системы, а также показатели свободно-радикального окисления белков плазмы крови у больных раком желудка в зависимости от возраста.
Материалы и методы: материалом исследования послужила плазма крови 35 больных раком желудка в возрасте 40–79 лет. Изучили активность ферментов обмена пуриновых нуклеотидов — аденозиндезаминазу (АДА) и ксантиноксидазу (КО), как показатели прооксидантной системы; антиоксидантную защиту — глутатионпероксидазу (ГПО) и супероксиддисмутазу (СОД); показатели окислительной модификации белков (ОМБ) — 2,4-динитрофенилгидразоны. Методом изучения активностей ферментов и уровня 2,4-динитрофенилгидразонов была спектрофотометрия.
Результаты: установлено, что при старении организма у больных происходит усиление прооксидантного статуса плазмы крови за счет повышения активностей аденозиндезаминазы и ксантиноксидазы, а также уровня 2,4-динитрофенилгидразонов на фоне снижения активностей ферментов антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы.
Выводы: обнаружены разнонаправленные изменения активностей ферментативного звена антиоксидантной защиты у больных раком желудка.

Ключевые слова: возраст, прооксиданты, антиоксиданты, рак желудка, аденозиндезаминаза, ксантиноксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза.

Введение

Известно, что в основе многих патологических процессов в организме, приводящих к старению и различным заболеваниям, в том числе онкологическим, лежит одно и то же явление — повреждение клеточных оболочек и структур внутри клетки активными формами кислорода (АФК). Биологическое старение представляет собой сложный и многофакторный процесс, молекулярные механизмы которого, лежащие в основе инициации заболеваний и их дальнейшего прогрессирования, остаются еще до конца не изученными [1]. Тем не менее, существует значительное количество доказательств того, что окислительный стресс (ОС), развивающийся по мере старения организма, может выступать в качестве основного этиологического фактора.

Ввиду того, с возрастом ухудшаются защитные функции организма, снижается активность антиоксидантной системы (АОС), изменяется скорость обмена белков и нуклеотидов, усиливаются процессы катаболизма и при этом одновременно накапливается большое количество токсических веществ, в том числе и канцерогенных, количество АФК возрастает, и риск различных возрастных болезней увеличивается [2]. При этом для биохимических методов диагностики наиболее доступным материалом является плазма крови. Считается, что изменения показателей прооксидантной системы (ПОС) и АОС, в плазме крови отражает их состояние и в тканях организма [3].

Цель исследования

Сравнительное изучение изменений в работе ПОС и АОС, а также продуктов свободно-радикального окисления (СРО) в плазме крови больных раком желудка (РЖ) в зависимости от возраста.

Материалы и методы

Исследование изучаемых показателей проводили в плазме крови 35 больных РЖ в возрасте от 40 до 79 лет. Группу контроля составили 80 здоровых добровольцев, той же возрастной группы, не имеющих онкозаболеваний и тяжелых патологий желудочно-кишечного тракта. В результате исследований все обследуемые были разделены на две группы в зависимости от возраста: первая группа (1-я) — от 40 до 59 лет, вторая группа (2-я) — от 60 до 79 лет. Нами была изучена активность ключевых ферментов распада пуриновых нуклеотидов — аденозиндезаминазы (АДА) и ксантиноксидазы (КО), которые способны нарабатывать АФК, а также активности ферментов первой линии антиоксидантного звена защиты от АФК: супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО) [4]. В качестве показателей интенсивности СРО мы исследовали уровень кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) и альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) нейтрального и основного характера, что в последнее десятилетие признано одним из наиболее ранних и стабильных показателей поражения различных тканей организма при свободно-радикальной окислительной модификации белков (ОМБ) [5]. Значения этих показателей в плазме крови мы определяли для изучения статуса ПОС и АОС при РЖ. Определение всех исследуемых показателей проводились спектрофотометрически и регистрировались на спектрофотометре Specord-200 (Analytik Jena AG, Германия). Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы «Statistica 10.0» Statsoft, USA. Все исследования проводились при согласии больных, предварительно детально ознакомленных с задача-

Таблица 1

Показатели СРО в плазме крови здоровых людей и больных РЖ в зависимости от возраста (M±σ)

Показатели	Здоровые		Больные РЖ	
	1-я группа (n=44)	2-я группа (n=36)	1-я группа (n=18)	2-я группа (n=17)
АДА, $\frac{\text{нмоль}}{\text{мин х мг}}$	2,20±0,41	2,75±0,54*	5,33±0,89	7,67±1,67*
КО, $\frac{\text{мкмоль}}{\text{мин х мг}}$	0,286±0,120	0,414±0,136*	0,527±0,091	0,611±0,136**
СОД, $\frac{\text{ед}}{\text{мг}}$	0,212±0,029	0,141±0,016*	0,138±0,006	0,124±0,011*
ГПО, $\frac{\text{мкмоль}}{\text{мин х мг}}$	7,10±0,71	6,36±0,21*	8,24±0,55	7,35±0,56*

Примечание:

* – значения показателя достоверны при p<0,001;

** – значения показателя достоверны при p<0,05.

ми исследования, программой лечебно-диагностических мероприятий и давших свое письменное, информированное согласие на отборы проб, которые осуществлялись под непосредственным контролем лечащих врачей. Исследование соответствует этическим принципам клинических испытаний и положениям Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, не нарушает интересы пациента и не вредит его здоровью (Комиссия по биоэтике Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького). Авторы сообщают (заявляют), что не имеют конкурирующих интересов.

Результаты и обсуждение

Исследовав влияние старения на ферментативные ПОС и АОС, а также на стимуляцию образования конечных продуктов СРО в исследуемых образцах у больных РЖ и здоровых добровольцев, получили следующие результаты: в плазме крови больных РЖ установлен, возрастной рост активностей АДА 31% (p<0,001) и КО на 14% (p<0,05), тогда как у здоровых людей — АДА повышается на 20% (p<0,001) и КО на 31% (p<0,001) (табл. 1).

Соответственно, как у больных РЖ, так и у здоровых людей при старении происходит повышение активности ферментов катаболизма пуриновых нуклеотидов, которые выступают не только маркерами воспаления, но и отражают состояние ОС. Однако возрастной темп роста активности АДА в плазме крови у больных РЖ имеет более выраженную динамику изменения, по сравнению с людьми, не имеющими онкозаболеваний, тогда как интенсивность роста КО у больных РЖ ниже.

В то же время, сравнив активности ферментов пуринового обмена в плазме крови у больных РЖ и здоровых людей разного возраста, установили, что в 1-й возрастной группе активность АДА у больных РЖ выше в 2,4 раза (p<0,001), а КО в 1,8 раз (p<0,001), по сравнению со здоровыми добровольцами. При этом во 2-й возрастной группе у больных РЖ активность АДА была в 2,8 раза выше относительно группы контроля (p<0,001), а КО в 1,5 раза (p<0,001) соответственно.

Таким образом, повышение активностей АДА и КО в плазме крови могут расцениваться как маркеры не только физиологического, но и патологического старения, а контроль и мониторинг их изменений в плазме крови может быть использован для диагностики заболеваний, ассоциированных со старением, в частности РЖ.

Исследовав ферментативное звено АОС в плазме крови у больных РЖ, было установлено статистически значимое снижение всех исследуемых показателей (СОД и ГПО) с возрастом на 10% (p<0,05), тогда как у здоровых людей активность СОД при старении снижается на 33% (p<0,001), а ГПО на 10% (p<0,001). Хотелось бы отметить, что ферменты АОЗ у здоровых людей имеют более тесную, обратную взаимосвязь с возрастом, по сравнению с больными РЖ (табл. 2).

Следовательно, если затухания ферментативного звена АОЗ плазмы крови с возрастом у людей, не имеющих онкозаболеваний, происходит более вы-

Таблица 2

Взаимосвязь ферментов СРО в плазме крови с возрастом

	АДА	КО	СОД	ГПО
Больные РЖ	r=0,62 (p<0,001)	r=0,51 (p<0,05)	r=-0,42 (p<0,05)	r=-0,58 (p<0,05)
Контрольная группа	r=0,43 (p<0,05)	r=0,49 (p<0,05)	r=-0,85 (p<0,001)	r=-0,77 (p<0,001)

ражено, то у больных РЖ она имеет менее интенсивную динамику, а значит, у больных РЖ старение, возможно, оказывает свой патогенетический механизм на регуляцию ферментов АОС.

Интерес вызывает факт, что при сравнении активностей ферментов АОС в плазме крови у больных РЖ и здоровых людей различного возраста, обнаружено, что в группе онкологических больных в возрасте 40–59 лет, активность СОД ниже в 1,4 раза ($p<0,05$) и в группе 60–79 лет ниже в 1,2 раза ($p<0,05$), а ГПО выше в 1,2 раза ($p<0,05$) во всех группах, по сравнению со здоровыми людьми. При этом в плазме крови между СОД/АДА у больных РЖ в возрасте 60–79 лет выявлена отрицательная тесная корреляция $r= -0,81$ ($p<0,001$).

Установлено, что при старении у больных РЖ концентрация 2,4-динитрофенилгидразонов (метаболитов ОМБ) в плазме крови достоверно не изменяется, а у здоровых людей с возрастом повышается на 13% ($p<0,05$) для всех продуктов ОМБ. При этом у здоровых добровольцев содержание 2,4-динитрофенилгидразонов имеет тесную взаимосвязь с возрастом $r=0,80$ ($p<0,001$) для всех метаболитов.

Сравнив содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в плазме крови у онкобольных и здоровых людей разного возраста обнаружено, что у больных РЖ в возрасте 40–59 лет содержание 2,4-динитрофенилгидразонов выше: КДНФГ(нейтр) в 2,2 раза, АДНФГ(нейтр) в 2,6 раза, КДНФГ(основ) в 3,5 раза и АДНФГ(основ) в 2,1 раза ($p<0,001$ для всех) по сравнению с людьми не имеющими онкопатологий.

Проведя аналогичное сравнение у людей в возрасте 60–79 лет, содержание продуктов ОМБ так же было выше у больных РЖ относительно группы здоровых людей, в 2 раза для КДНФГ(нейтр), в 2,2 раза для АДНФГ (нейтр), в 2,3 раза для КДНФГ(основ) и в 2,5 раз для АДНФГ (основ) (при $p<0,001$ для всех). При этом, как ранее нами установлено, все продукты СРО белков отрицательно коррелируют с ферментами АОС [6].

Таким образом, показатели ОМБ у здоровых людей при старении повышаются, а у больных РЖ достоверно не отличаются. При этом содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в плазме крови у больных РЖ выше, чем у здоровых добровольцев, и информативней это видно в группе возрастом 40–59 лет, что возможно связано с более интенсивными изменениями метаболизма у людей данной возрастной группы.

Выводы

1. Выявлено, что при старении организма у больных РЖ, происходит усиление скорости катаболизма пуринов: повышение активности АДА на 31% и КО на 14%, при этом активности ферментов АОС (СОД и ГПО) при старении в плазме крови снижаются на 10%.
2. Установлено, что активность АДА в плазме крови больных РЖ в возрастной группе 40–59 лет и в группе 60–79 лет выше в 2,4 и 2,8 раза по сравнению со здоровыми добровольцами, а активность КО в 1,7 и 1,5 раза соответственно.
3. Обнаружены разнонаправленные изменения активностей ферментативного звена антиоксидантной защиты у больных РЖ: в плазме крови активность СОД в 1-й и во 2-й возрастной группе ниже в 1,4 и 1,2 раза, относительно группы контроля, тогда как активность ГПО выше в 1,2 раза во всех возрастных группах.
4. Выявлено, что уровень 2,4-динитрофенилгидразонов, причем как основного, так и нейтрального характера, у больных РЖ повышен в плазме крови, относительно здоровых людей — в 1-й группе, в 2,1–3,5 раза (в зависимости от вида 2,4-динитрофенилгидразонов) и в 2–2,5 раза во 2-й возрастной группе.

Список литературы

1. Goldsmith T. Evolution of aging theories: Why modern programmed aging concepts are transforming medical research. Biochemistry (Moscow). 2016;81(12):1406–1412. doi:10.1134/s0006297916120026.
2. He Y, Zhou F, Shen Y, Liao D, Cao D. Apoptotic Death of Cancer Stem Cells for Cancer Therapy. International Journal of Molecular Sciences. 2014;15(5):8335–8351. doi:10.3390/ijms15058335.
3. Kuo T, Kim-Muller J, McGraw T, Accili D. Altered Plasma Profile of Antioxidant Proteins as an Early Correlate of Pancreatic β Cell Dysfunction. Journal of Biological Chemistry. 2016;291(18):9648–9656. doi:10.1074/jbc.m115.702183.
4. Wdowiak A, Brzozowski I, Bojar I. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in pregnancy complicated by diabetes. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2015;22(2):297–300. doi:10.5604/12321966.1152083.
5. Andriichuk A, Tkachenko H, Tkachova I. Oxidative Stress Biomarkers and Erythrocytes Hemolysis in Well-Trained Equine Athletes Before and After Exercise. Journal of Equine Veterinary Science. 2016;36:32–43. doi:10.1016/j.jevs.2015.09.011.
6. Zuikov S. Study on nucleotide exchange and its interrelationship with prooxidant and antioxidant systems in humans of different ages. Advances in Gerontology. 2015;5(1):22–26. doi:10.1134/s2079057015010117.

S.A. Zuikov, I.I. Zinkovich

The effect of aging on oxidative potential of blood plasma in oncological patients

M.Gorky Donetsk National Medical University

Aim. To study the state of the prooxidant and antioxidant system, as well as indicators of free radical oxidation of plasma proteins in patients with stomach cancer, depending on the age.
Materials and Methods. The material of the study was blood plasma of 35 patients with stomach cancer at the age of 40–79. The activity of purine metabolism enzymes — adenosine deaminase (ADA) and xanthine oxidase (XO) which has the prooxidant ability was determined as well as the activity of antioxidant defense enzyme — glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD), indicators of oxidative modification of proteins (OMP) — 2,4-dinitrophenylhydrazones. The enzymes activities and 2,4-dinitrophenylhydrazones level were measured by spectrophotometry.
Results. It is established that with aging of the body in patients, the prooxidant status of blood plasma increases, due to rise in the activity of adenosine deaminase and xanthine oxidase, as well as 2,4-dinitrophenylhydrazones level, against the background of a decrease in activities of antioxidant defense enzymes — superoxide dismutase and glutathione peroxidase.
Conclusion. Multidirectional changes in the activity of the enzymatic link of antioxidant protection in patients with stomach cancer were determined.

Keywords: age, prooxidants, antioxidants, stomach cancer, adenosine deaminase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase.