

Изменения показателей прооксидантной и антиоксидантной систем в плазме крови у мужчин при атрофическом гастрите и раке желудка

В.В. ЦУКАНОВ, О.В. СМИРНОВА, Э.В. КАСПАРОВ, А.А. СИНЯКОВ, А.В. ВАСЮТИН, Ю.Л. ТОНКИХ

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук"» (ФИЦ КНЦ СО РАН), обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» (НИИ МПС), Красноярск, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучить изменения показателей прооксидантной и антиоксидантной систем в плазме крови у мужчин при атрофическом гастрите и раке желудка.

Материалы и методы. Обследовано 60 практически здоровых мужчин, 42 больных атрофическим гастритом и 50 мужчин, больных некардиальным раком желудка II стадии по TNM. Всем пациентам выполнялась серологическая диагностика диффузного атрофического гастрита (определение пепсиногенов и гастрин-17) и инфекции *Helicobacter pylori*. Диагноз «атрофический гастрит» верифицировался морфологическим исследованием биоптатов, полученных во время фиброэзофагогастроуденоскопии. Диагностика рака желудка осуществлялась в Красноярском краевом онкологическом диспансере на основании комплексного инструментального и морфологического обследования. Всем пациентам спектрофотометрическими методами в плазме крови определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), глутатион-S-трансферазы (ГСТ), глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы.

Результаты. Концентрация СОД, ГСТ, ГПО и каталазы не имела существенных различий у больных атрофическим гастритом и раком желудка и преваляровала в сравнении со здоровыми лицами. У больных раком желудка содержание в плазме крови ДК в 2,7 раза и МДА в 35,2 раза превышало аналогичные показатели здоровых лиц, что свидетельствовало о выраженном оксидативном стрессе у пациентов с онкологической патологией. У пациентов с атрофическим гастритом наблюдалась аналогичная, но менее выраженная закономерность.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о наличии проявлений оксидативного стресса у мужчин с атрофическим гастритом и раком желудка.

Ключевые слова: атрофический гастрит, рак желудка, оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, *Helicobacter pylori*.

Changes in the indices of prooxidant and antioxidant systems in blood plasma in men with atrophic gastritis and gastric cancer

V.V. TSUKANOV, O.V. SMIRNOVA, E.V. KASPAROV, A.A. SINYAKOV, A.V. VASYUTIN, Yu.L. TONKIKH

Krasnoyarsk Science Centre of the Siberian Branch of Russian Academy of Science (FRC KSC SB RAS) separate division "Scientific Research Institute of medical problems of the North" (SRI MPN), Krasnoyarsk, Russia

Aim. To study changes in the indices of prooxidant and antioxidant systems in plasma in men with atrophic gastritis and gastric cancer.

Materials and methods. The study included 60 healthy men, 42 patients with atrophic gastritis and 50 men, nicardipine patients with gastric cancer stage II according to TNM. All patients underwent serological diagnosis of diffuse atrophic gastritis (definition of pepsinogens and gastrin-17) and *Helicobacter pylori* infection. The diagnosis of "atrophic gastritis" was verified by morphological examination of biopsy specimens obtained during fibroesophagogastroduodenoscopy. Diagnosis of gastric cancer was carried out in the Krasnoyarsk regional oncologic dispensary on the basis of a comprehensive instrumental and morphological examination. All patients spectrophotometric methods in plasma was determined the content of diene conjugates (DC), malonic dialdehyde (MDA), glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase.

Results. The concentration of SOD, GST, GPO and catalase had no significant differences in patients with atrophic gastritis and gastric cancer and prevailed in comparison with healthy persons. Patients with cancer of the stomach content in the blood plasma DK 2.7 times and MDA at 35.2 times higher than healthy individuals, indicating severe oxidative stress in patients with cancer. In patients with atrophic gastritis was observed similar but less pronounced pattern.

Conclusion. The results indicate the presence of oxidative stress in men with atrophic gastritis and gastric cancer.

Keywords: atrophic gastritis, gastric cancer, oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant protection, *Helicobacter pylori*.

АФК – активные формы кислорода
ГПО – глутатионпероксидаза
ГСТ – глутатион-S-трансфераза
ДК – диеновые конъюгаты
ИЛ-8 – интерлейкин-8
ИФА – иммуноферментный анализ

МДА – малоновый диальдегид
ПОЛ – перекисное окисление липидов
РЖ – рак желудка
СОД – супероксиддисмутазы
ХАГ – хронический атрофический гастрит

Каждый год в мире диагностируется около 900 тыс. новых случаев рака желудка (РЖ), являющегося одной из ведущих причин смертности от онкологической патологии [1].

Значительные успехи в понимании канцерогенеза в желудке были достигнуты после предложения P. Correa [2] каскада, объясняющего патогенетическую цепочку этой патологии.

гии. Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости РЖ в Западной Европе и Северной Америке, борьба с данной онкологической патологией продолжает оставаться одной из ведущих целей гастроэнтерологии [3, 4]. Следует подчеркнуть, что механизмы развития РЖ до настоящего времени остаются недостаточно ясными [5]. В связи с этим изучение патогенетических аспектов этого заболевания является одной из наиболее актуальных задач в клинической практике внутренних болезней [6–8].

Материалы и методы

Обследованы 152 мужчины в возрасте от 25 до 65 лет, рандомизированные на три группы. В первую группу вошли 60 практически здоровых мужчин (средний возраст – 48,7±3,9 года), во вторую группу – 42 больных мужского пола с хроническим атрофическим гастритом (ХАГ; средний возраст – 50,1±4,9 года), и третью группу составили 50 мужчин больных, некардиальным РЖ II стадии по TNM (средний возраст – 52,3±4,9 года).

Исследование проводилось с разрешения этического комитета НИИ медицинских проблем Севера (протокол №11 от 11.11.2013 г.). Каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование, согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, регламентирующей проведение научных исследований.

Всем обследованным пациентам выполнялась серологическая диагностика диффузного атрофического гастрита и инфекции *Helicobacter pylori*. Пациентам с серологически диагностированным ХАГ и с РЖ осуществлялись фиброэзофагогастродуоденоскопия и морфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки желудка (два биоптата из антрального отдела и два биоптата из тела желудка). Определение показателей прооксидантной и антиоксидантной систем проводилось в плазме крови спектрофотометрическими методами. Кровь для исследований забиралась утром натощак из локтевой вены в пробирки Vacutainer с разделительным гелем и двойным активатором свертывания (кремнезем) и Vacutainer с раствором гепарина натрия (5 ЕД/мл).

Серологическая диагностика атрофического гастрита осуществлялась с помощью определения в сыворотке крови пепсиногена-1, пепсиногена-2 и гастрин-17 с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА-анализаторе «СтатФакс-3000», используя тест-систему «Гастропанель» («Биохит», Финляндия). Лабораторные анализы выполнялись в клинико-диагностической лаборатории НИИ медицинских проблем Севера. Диагноз диффузного атрофического гастрита ставили на основании уровня пепсиногена-1 <25 мкг/л, значения отношения пепсиноген-1/пепсиноген-2 <3, показателей базального гастрин-17 <1,0 пмоль/л и данных морфологического исследования. К здоровым лицам

относили пациентов с отсутствием жалоб со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта, отсутствием гастроэнтерологического анамнеза, уровнем пепсиногена-1 >70 мкг/л в сыворотке крови, соотношением пепсиноген-1/пепсиноген-2 >3 и уровнем базального гастрин-17 >2,0 пмоль/л.

Эзофагогастродуоденоскопия и морфологическое исследование слизистой оболочки антрального отдела (два биоптата), большой и малой кривизны тела желудка с использованием модифицированной Сиднейской классификации проведены 92 пациентам [9]. Диагностика РЖ выполнялась в Красноярском краевом онкологическом диспансере на основании комплексного инструментального и морфологического обследования.

Из показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) [10] и малонового диальдегида (МДА) [11]. Для изучения системы антиоксидантной защиты измеряли активность глутатион-S-трансферазы (ГСТ) [12], глутатионпероксидазы (ГПО) [13], супероксиддисмутазы (СОД) [14] и каталазы [15] в плазме.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, США). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с использованием критерия Шапиро–Уилка. При описании выборки вычислялись медианы (Me) и интерквартильный размах процентилей (C₂₅–C₇₅). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по критерию Манна–Уитни ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Частота инфекции *H. pylori* не имела существенных различий в обследованных группах и составила 78,3% в группе контроля, 88,1% у больных ХАГ (ОШ=0,49; ДИ 0,16–1,49; $p=0,3$) и 86,0% у пациентов с РЖ (ОШ=0,59; ДИ 0,21–1,61; $p=0,4$).

Содержание ДК (в 2,7 раза) и МДА (в 35,2 раза) в плазме крови у больных РЖ значительно превышало показатели здоровых лиц, что свидетельствовало о выраженном оксидативном стрессе у пациентов с онкологической патологией.

Таблица 1. Показатели ПОЛ в плазме крови у больных ХАГ и РЖ

Группы	ДК, мкмоль/л	МДА, мкмоль на 1 г белка
1. Контроль (n=60):		
Me	1,15	1,6
C ₂₅ –C ₇₅	0,88–1,38	0,96–2,24
2. ХАГ (n=42):		
Me	2,38	5,24
C ₂₅ –C ₇₅	1,5–2,41	4,38–5,88
3. РЖ (n=50):		
Me	3,1	56,35
C ₂₅ –C ₇₅	2,8–3,2	32,46–101,74
p ₁₋₂	0,03	<0,001
p ₂₋₃	0,16	<0,001
p ₁₋₃	0,001	<0,001

Контактная информация:

Цуканов Владислав Владимирович – д.м.н., проф., зав. клин. отд-нием патологии пищеварительной системы у взрослых и детей; тел. +7(913)170-87-82; e-mail: gastro@impn.ru

Сведения об авторах:

Смирнова Ольга Валентиновна – д.м.н., проф., зав. лаб. клинической патофизиологии

Каспаров Эдуард Вильямович – д.м.н., проф., зам. директора ФИЦ КНЦ СО РАН по научно-организационной работе

Синяков Александр Александрович – м.н.с. лаб. клинической патофизиологии

Васютин Александр Викторович – к.м.н., с.н.с. клин. отд-ния патологии пищеварительной системы у взрослых и детей

Тонких Юлия Леонгардовна – к.м.н., с.н.с. клин. отд-ния патологии пищеварительной системы у взрослых и детей

Таблица 2. Показатели антиоксидантной защиты плазмы крови у больных ХАГ и РЖ

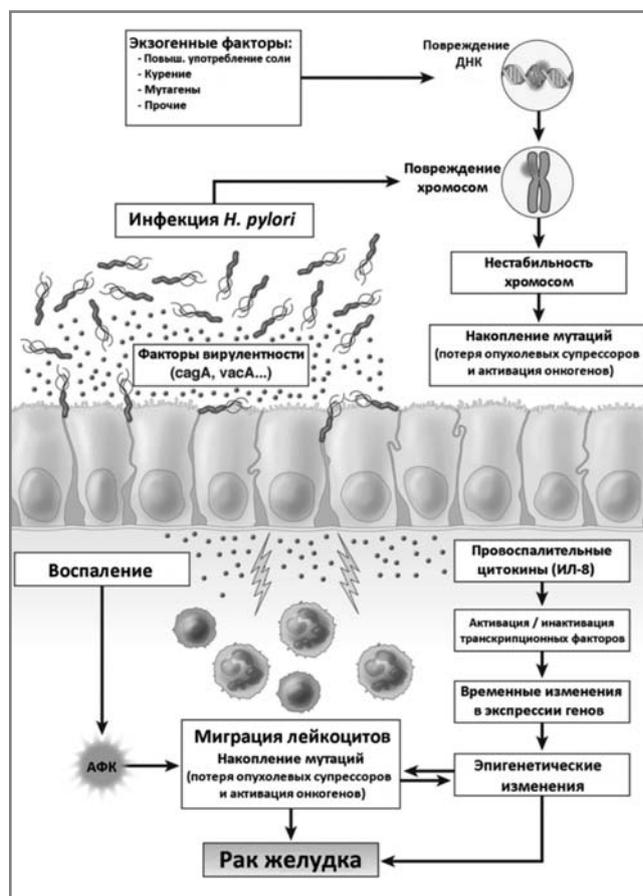
Группы	СОД, ед/мин на 1 г белка	Каталаза, мкмоль/с на 1 г белка	ГСТ, ммоль/мин на 1 г белка	ГПО, мкмоль на 1 г белка
1. Контроль (n=60):				
Me	204,41	0,27	41,3	105,9
C ₂₅ -C ₇₅	151,05–250,32	0,16–0,39	37,7–42,64	81,19–162,38
2. ХАГ (n=42):				
Me	570,5	0,66	70,6	177,5
C ₂₅ -C ₇₅	314–670,8	0,42–0,71	63,5–105,7	150,1–236,05
3. РЖ (n=50):				
Me	235,2	0,87	83,5	168,6
C ₂₅ -C ₇₅	133,7–462,27	0,67–1,01	79,3–110,6	158,7–211,5
p ₁₋₂	<0,001	0,03	<0,001	0,007
p ₂₋₃	<0,001	0,2	0,4	0,8
p ₁₋₃	0,5	0,02	<0,001	0,01

гией. Но самым интересным являлось то, что концентрация ДК и МДА в плазме превалировала у пациентов с ХАГ в сравнении с контрольной группой (табл. 1). Полученный факт важен, так как он объясняет причины персистенции и развития воспалительного процесса у больных атрофическим гастритом.

Показатели антиоксидантной защиты в плазме демонстрировали умеренную активацию этой системы у пациентов с ХАГ и РЖ в сравнении со здоровыми лицами. Обращает на себя внимание, что содержание СОД в плазме у пациентов с ХАГ было выше, чем у больных РЖ, а концентрация каталазы, ГСТ и ГПО в этих группах не различалась, что свидетельствует о недостаточном ответе антиоксидантной защиты у пациентов с онкологической патологией, так как, например, концентрация МДА у больных РЖ была в 11 раз выше в сравнении с пациентами с ХАГ (табл. 2). В целом, полученные данные верифицируют идею реальности роли оксидативного стресса в патологической цепочке каскада Корреа.

В настоящее время существует ряд работ, подтверждающих значимость окислительного стресса в развитии гастрита и РЖ [16–18]. Оригинальность нашего исследования заключается в демонстрации нарушений про- и антиоксидантных систем уже у пациентов с диффузным атрофическим гастритом в сравнении со здоровыми лицами. Второй особенностью нашей работы является обнаружение однонаправленности изменений показателей оксидативного стресса у больных с ХАГ и РЖ.

Заслуживает внимания место ПОЛ в современных представлениях о патогенезе гастрита и РЖ [19]. На развитие патологии влияют три основные группы факторов: свойства бактерии *H. pylori*, восприимчивость и реакция макроорганизма и условия окружающей среды [20]. Штаммы *H. pylori*, содержащие определенные субтипы *CagA* и *VacA*, характеризуются повышенной выживаемостью, способностью к адгезии, что увеличивает повреждение клеток эпителия желудка и позволяет уклониться от иммунного ответа макроорганизма [21]. После адгезии *H. pylori* нарушает внутриклеточные процессы в эпителии, вызывая воспаление и эпигенетические модификации [22, 23]. Ответ организма хозяина сопровождается привлечением иммунных клеток в очаг воспаления, выделением ими цитокинов и, при определенных условиях, образованием активных форм кислорода, которые приводят к оксидативному стрессу и способствуют повреждению ДНК и канцерогенезу [24]. В инфицированных *H. pylori* клетках возможен запуск процессов, препятствующих активации ответа иммунной и антиоксидантной систем организма хозяина [25].



Патогенез развития атрофического гастрита и РЖ [4].

АФК – активные формы кислорода, ИЛ-8 – интерлейкин-8

D. Graham в одной из своих работ [4] предлагает схему развития РЖ при хеликобактерной инфекции (см. рисунок).

Заключение

При исследовании показателей про- и антиоксидантной системы в плазме крови нами установлены очевидные проявления оксидативного стресса у мужчин с ХАГ и РЖ. Изучение этой проблемы может позволить выделять группу повышенного риска среди пациентов с предраковыми заболеваниями и оптимизировать профилактику РЖ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127(12):2893-917. doi: 10.1002/ijc.25516
2. Correa P. Gastric cancer: overview. *Gastroenterol Clin North Am*. 2013;42(2):211-7. doi: 10.1016/j.gtc.2013.01.002
3. Цуканов В.В., Амелъчугова О.С., Каспаров Э.В., Буторин Н.Н., Васютин А.В., Тонких Ю.Л., Третьякова О.В. Роль эрадикации *Helicobacter pylori* в профилактике рака желудка. *Терапевтический архив*. 2014;86(8):124-7 [Tsukanov VV, Amel'chugova OS, Kasparov EV, Butorin NN, Vasiutin AV, Tonkikh JuL, Tret'jakova OV. Role of *Helicobacter pylori* eradication in the prevention of gastric cancer. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2014;86(8):124-7 (In Russ.)].
4. Graham DY. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology*. 2015;148(4):719-31. doi:10.1053/j.gastro.2015.01.040
5. Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Рязанцева Н.В., Цуканов В.В. Молекулярно-генетические факторы, влияющие на исход инфицирования *Helicobacter pylori* у жителей Республики Хакасия. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2010;20(4):25-30 [Ageyeva ES, Shtygasheva OV, Ryzantseva NV, Tsukanov VV. Molecular-genetic factors affecting the outcome of *Helicobacter pylori* infection in the inhabitants of the Republic of Khakassia. *Rossiyskiy Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii*. 2010;20(4):25-30 (In Russ.)].
6. Цуканов В.В., Третьякова О.В., Амелъчугова О.С., Каспаров Э.В., Родина Д.В., Васютин А.В., Буторин Н.Н., Тонких Ю.Л. Распространенность атрофического гастрита тела желудка у населения г. Красноярска старше 45 лет. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2012;22(4):27-31 [Tsukanov VV, Tret'yakova OV, Amel'chugova OS, Kasparov EV, Rodina DV, Vasyutin AV, Butorin NN, Tonkikh JuL. The prevalence of atrophic gastritis of the body of the stomach in the population of Krasnoyarsk is over 45 years old. *Rossiyskiy Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii*. 2012;22(4):27-31 (In Russ.)].
7. Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, Haruma K, Asaka M, Uemura N, Malfertheiner P. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*. 2015;64(9):1353-67. doi:10.1136/gutjnl-2015-309252
8. Tsukanov VV, Butorin NN, Maady AS, Shtygasheva OV, Amelchugova OS, Tonkikh JuL, Fassan M, Rugge M. *Helicobacter pylori* Infection, Intestinal Metaplasia, and Gastric Cancer Risk in Eastern Siberia. *Helicobacter*. 2011;16(2):107-12. doi: 10.1111/j.1523-5378.2011.00827.x
9. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(10):1161-81. doi: 10.1097/00000478-199610000-00001
10. Situnayake RD, Crump BJ, Zezulka AV, Davis M, McConkey B, Thurnham DI. Measurement of conjugated diene lipids by derivative spectroscopy in heptane extracts of plasma. *Ann Clin Biochem*. 1990;27(Pt 3):258-66. doi: 10.1177/000456329002700313
11. Li XY, Chow CK. An improved method for the measurement of malondialdehyde in biological samples. *Lipids*. 1994;29(1):73-5. doi:10.1007/bf02537094
12. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974;249(22):7130-9.
13. Mannervik B. Glutathione Peroxidase. In: Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine. John Wiley & Sons, Inc.; 2002 Jan 15. doi: 10.1002/0471203076.emm1273
14. Sun M, Zigman S. An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autoxidation. *Anal Biochem*. 1978;90(1):81-9. doi: 10.1016/0003-2697(78)90010-6
15. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*. 1991;196(2-3):143-51. doi: 10.1016/0009-8981(91)90067-m
16. Drake IM, Davies MJ, Mapstone NP, Dixon MF, Schorah CJ, White KL, Chalmers DM, Axon AT. Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals. *Carcinogenesis*. 1996 Mar;17(3):559-62. doi: 10.1093/carcin/17.3.559
17. Na HK, Woo JH. *Helicobacter pylori* Induces Hypermethylation of CpG Islands Through Upregulation of DNA Methyltransferase: Possible Involvement of Reactive Oxygen/Nitrogen Species. *J Cancer Prev*. 2014;19(4):259-64. doi: 10.15430/JCP.2014.19.4.259
18. Yanaka A. Sulforaphane enhances protection and repair of gastric mucosa against oxidative stress in vitro, and demonstrates anti-inflammatory effects on *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosae in mice and human subjects. *Curr Pharm Des*. 2011;17(16):1532-40. doi: 10.2174/138161211796196945
19. Backert S, Neddermann M, Maubach G, Naumann M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2016;21 Suppl.1:19-25. doi: 10.1111/hel.12335
20. Varbanova M, Frauenschläger K, Malfertheiner P. Chronic gastritis – an update. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2014;28(6):1031-42. doi: 10.1016/j.bpg.2014.10.005
21. Posselt G, Backert S, Wessler S. The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Commun Signal*. 2013;11:77. doi: 10.1186/1478-811X-11-77
22. De Falco M, Lucariello A, Iaquinto S, Esposito V, Guerra G, De Luca A. Molecular Mechanisms of *Helicobacter pylori* Pathogenesis. *J Cell Physiol*. 2015;230(8):1702-7. doi: 10.1002/jcp.24933
23. Valenzuela MA, Canales J, Corvalán AH, Quest AF. *Helicobacter pylori*-induced inflammation and epigenetic changes during gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(45):12742-56. doi: 10.3748/wjg.v21.i45.12742
24. Zhang RG, Duan GC, Fan QT, Chen SY. Role of *Helicobacter pylori* infection in pathogenesis of gastric carcinoma. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2016;7(1):97-107. doi: 10.4291/wjgp.v7.i1.97
25. Buommino E, Donnarumma G, Manente L, De Filippis A, Silvestri F, Iaquinto S, Tufano MA, De Luca A. The *Helicobacter pylori* protein HspB interferes with Nrf2/Keap1 pathway altering the antioxidant response of Ags cells. *Helicobacter*. 2012;17(6):417-25. doi: 10.1111/j.1523-5378.2012.00973.x

Поступила 30.08.17