

## ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Харьковский национальный медицинский университет

В эксперименте изучены показатели, характеризующие состояние соединительной ткани у больных колоректальным раком. Установлено, что данное заболевание сопровождается повышением коллагенолитической активности сыворотки крови, активацией эластазы, увеличением уровней гликозаминогликанов и гиалуроновой кислоты в сыворотке крови. При этом наименее выраженные изменения упомянутых параметров характерны для II стадии заболевания, в то время как максимальные изменения наблюдаются при IV стадии колоректального рака. Таким образом, колоректальный рак сопровождается активной деструкцией внеклеточного матрикса.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, коллагенолитическая активность, гликозаминогликаны, эластаза, гиалуроновая кислота.

Результаты работы были получены в ходе исследований по научно-технической теме МЗ Украины «Клініко-експериментальне обґрунтування донозологічної діагностики та оптимізації патогенетичної терапії онкопатології товстого кишечника на основі вивчення інтегративних систем контролю гомеостатичної функції організму», № гос. регистрации 0110U000485, 2012г.

**Введение.** Ежегодно в Соединенных Штатах диагностируется 160000 впервые зарегистрированных случаев колоректального рака (КРР), 57000 пациентов умирают от данного заболевания, что делает его второй по значимости причиной смерти от онкологической патологии среди взрослого населения. Заболевание начинается в виде доброкачественного аденоматозного полипа, который трансформируется в аденому с дисплазией высокой степени, переходящую затем в инвазивный рак [7]. Важное значение приобретает ранняя диагностика заболевания, что обусловлено эффективностью лечения КРР на ранних стадиях. Так, опухоли I и II стадии успешно элиминируются оперативным путем. Оперативное вмешательство в сочетании с адьювантной химиотерапией оказывает положительный эффект в 73% случаев III стадии КРР. Несмотря на значительные достижения химиотерапии последних лет, КРР IV стадии, как правило, является incurable [4]. Для КРР характерна выраженная тенденция к малигнизации. Примерно у 25% больных с впервые выявленной патологией обнаруживаются

метастазы, а у 50% всех пациентов с КРР метастазы разовьются со временем [6].

Известно, что состояние соединительной ткани вносит вклад в прогрессирование опухоли, оказывая влияние на опухолевую инвазию и метастазирование. Однако роль соединительной ткани при КРР, а также потенциальная прогностическая роль метаболитов, характеризующих состояние внеклеточного матрикса при онкологическом процессе, который поражает толстый кишечник, подлежит уточнению.

**Целью работы** явилось изучение особенностей состояния соединительной ткани у больных КРР.

**Материалы и методы.** В исследовании принимали участие 123 больных (69 мужчин и 54 женщин) колоректальным раком, которые находились на обследовании и лечении в Харьковском областном онкологическом центре. Диагноз КРР и стадию заболевания подтверждали с помощью клинических и гистологических методов: II стадия онкопроцесса обнаружена у 35 пациентов; у 29 пациентов диагностировали III стадию КРР и 25 пациентов страдали от IV стадии. Группу сравнения (34 человека) составляли условно здоровые лица аналогичного возраста и пола без онкопатологии. Программа исследования включала определение активности эластазы, коллагенолитической активности (КЛА) сыворотки крови, содержания гиалуроновой кислоты и гликозаминогликанов (ГАГ) в сыворотке крови.

Активность эластазы определяли иммуноферментным методом с помощью набора реактивов "Human Elastase" (Hycult Biotech, Нидерланды). КЛА сыворотки крови определяли путем инкубации образцов сыворотки с нативным коллагеном с последующим определением продуктов его распада по гидроксипролину [2]. Содержание ГАГ в сыворотке крови определяли по методу П. Н. Шарая [3]. Концентрацию гиалуроновой кислоты (ГК) в сыворотке крови обследуемых лиц определяли иммуноферментным методом с помощью набора «Hyaluronic Acid (HA) test KIT» (Corgenix Inc., США).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программы GraphPad Prism 5. Для выявления различий между независимыми группами нормально распределенных величин использовали t-критерий Стьюдента-Фишера; различия между группами считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** В результате проведенного исследования

Таблиця

## Показатели метаболизма соединительной ткани у больных КРР

Показатели	Группа наблюдения, М ± m			
	Группа сравнения (n = 34)	II стадия колоректального рака (n = 35)	III стадия колоректального рака (n = 29)	IV стадия колоректального рака (n = 25)
Эластаза (пкг/мл)	26,94 ± 2,92	75,33 ± 6,11*	141,71 ± 8,65*	189,54 ± 10,12*
Коллагенолитическая активность (мкмоль/л ч)	7,01 ± 0,49	35,76 ± 3,45*	41,23 ± 3,44*	46,12 ± 2,74*
Гликозаминогликаны (мкмоль/л)	32,56 ± 2,49	50,74 ± 4,32*	73,99 ± 5,43*	96,99 ± 4,32*
Гиалуроновая кислота (нг/мл)	31,46 ± 1,51	51,51 ± 2,79*	71,34 ± 3,12*	87,79 ± 3,54*

Примечание: \* разница достоверна  $p < 0,05$ .

обнаружено достоверное повышение активности эластазы у пациентов с КРР. При анализе активности данного фермента у больных КРР установлено, что эластаза максимально активна у пациентов на IV стадии заболевания и минимально активна у больных КРР со II стадией. Так у пациентов со второй стадией КРР активность эластазы выше в 3 раза по сравнению с контрольной группой, у больных на третьей стадии – в 5,5 раз и, наконец, у пациентов с четвертой стадией КРР – в 7 раз (табл.). Известно, что вокруг опухолей ткани в толстой кишке происходит накопление нейтрофилов [5] с последующей секрецией эластазы – протеолитического фермента, обладающего выраженной активностью в отношении структурного компонента соединительной ткани – белка эластина, что позволяет предположить вклад именно нейтрофильной эластазы в повышение общей активности эластазы крови.

В ходе исследования установлено, что у больных КРР достоверно повышается КЛА по сравнению с условно здоровыми людьми. Динамика изменения КЛА сыворотки крови в зависимости от стадии заболевания схожа с динамикой изменения активности эластазы. Так КЛА у пациентов на II стадии превышает аналогичный показатель контрольной группы в 5 раз. В то время как у пациентов на III и IV стадиях КРР показатель КЛА выше соответственно приблизительно в 6 и 7 раз по сравнению с условно здоровыми индивидами (табл.). Известно, что суммарная КЛА состоит в первую очередь из активности матричных металлопротеиназ (коллагеназа, желатиназа) и катепсинов, т. е. ферментов лизосомального и нелизосомального происхождения [1].

Повышение КЛА у больных КРР указывает на усиленный протеолиз коллагена при данной патологии. Таким образом, увеличение КЛА сыворотки крови на фоне повышения активности эластазы свидетельствует в пользу ускоренной деградации белковых структурных компонентов соединительной ткани, в частности коллагена и эластина, что может вносить вклад в дальнейшее прогрессирование заболевания, опухолевую инвазию и метастазирование.

Процессы протеолиза компонентов соединительной ткани имеют более выраженный характер на поздних стадиях КРР.

Установлено, что дезинтеграция внеклеточного матрикса включает не только белковый компонент. Оценка содержания углеводных компонентов соединительнотканного матрикса показала повышение как ГАГ, так и одного из компонентов ГАГ – гиалуроновой кислоты у больных КРР. Вторая стадия КРР сопровождается полуторакратным повышением концентрации ГАГ в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой, а уровень гиалуроновой кислоты увеличен в 1,6 раз. У пациентов на третьей стадии заболевания наблюдается более выраженное повышение уровней гетерополисахаридов внеклеточного матрикса в сыворотке крови: как ГАГ, так и ГК увеличены в 2,3 раза. Четвертая стадия КРР приводит к увеличению ГАГ и ГК соответственно в 3 и 2,8 раза по сравнению с условно здоровыми людьми (табл.). Повышение ГК и ГАГ в сыворотке крови указывает на ускоренный катаболизм протеогликанов внеклеточного матрикса. Таким образом, повышение ГАГ в сыворотке крови пациентов с КРР свидетельствует в пользу деструкции соединительной ткани при данной патологии.

**Выводы.** Принимая во внимание изложенные результаты, мы можем сделать вывод о том, что колоректальный рак сопровождается активной деструкцией внеклеточного матрикса, более выраженной на поздних стадиях. Ускоренный катаболизм компонентов межклеточного вещества соединительной ткани может облегчать дальнейшую опухолевую инвазию, а также метастазирование.

Анализ показывает, что указанные показатели могут служить в качестве прогностической основы для оценки степени тяжести заболевания и отражают важную роль внеклеточного матрикса в патогенезе и метастазировании КРР.

**Перспективы дальнейших исследований.** Полученные результаты позволяют обосновать перспективы дальнейших исследований, направленные на изучения механизмов развития, диагностики и лечения колоректального рака.

## Список литературы

1. Бондарь И. А. Метаболизм коллагена и коллагенолитическая активность сыворотки крови у больных сахарным диабетом 1 типа с нефропатией / И. А. Бондарь, В. В. Климонтов, Л. Б. Ким [и др.] // Сахарный диабет – 2005. – № 4. – С. 10-13.

2. Шараев П. Н. Определение коллагенолитической активности плазмы крови / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. Г. Зворыгина // Лабораторное дело. – 1987. – № 1. – С. 60-62.
3. Шараев, П. Н. Определение гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева // Лабораторное дело. – 1987. – № 5. – С. 330-332.
4. Compton C. Colon cancer. In: Abelloff M. D., Armitage J., Niederhuber J. E., Kastan M. B., McKenna G. W. / C. Compton, E. T. Hawk, L. Grochow [et al.] // Philadelphia: Churchill Livingstone – 2008. – P. 1477-534.
5. Ho A. S. Neutrophil elastase as a diagnostic marker and therapeutic target in colorectal cancers / A. S. Ho, C. H. Chen, C. C. Cheng [et al.] // Oncotarget. – 2014. – Vol. 5, № 2. – P. 473-80.
6. Kirstein M. M. Targeted therapies in metastatic colorectal cancer: a systematic review and assessment of currently available data / M. M. Kirstein, A. Lange, A. Prenzler [et al.] // Oncologist. – 2014. – Vol. 19, № 11. – P. 1156-1168.
7. Markowitz S. A. Molecular Basis of Colorectal Cancer / S. A. Markowitz, M. M. Bertangolli // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 361, № 25. – P. 2449-2460.

**УДК** [616. 345+616. 35]-006-018. 2-07

### **ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК**

**Горбач Т. В., Ткаченко А. С., Мартинова С. М., Литвиненко Е. Ю., Моїсеєнко А. С.**

**Резюме.** В експерименті вивчено показники, що характеризують стан сполучної тканини у хворих на колоректальний рак. Встановлено, що дане захворювання супроводжується підвищенням колагенолітичної активності сироватки крові, активацією еластази, підвищенням рівнів глікозаминогликанів і гіалуронової кислоти у сироватці крові. При цьому найменш виражені зміни згаданих параметрів характерні для II стадії захворювання, в той час як максимальні зміни спостерігаються при IV стадії колоректального раку. Таким чином, колоректальний рак супроводжується активною деструкцією позаклітинного матриксу.

**Ключові слова:** колоректальний рак, колагенолітична активність, глікозаминогликани, еластаза, гіалуронова кислота.

**UDC** [616. 345+616. 35]-006-018. 2-07

### **Features of Connective Tissue in Patients with Colorectal Cancer**

**Gorbach T. V., Tkachenko A. S., Martynova S. N., Lytvinenko E. Yu., Moiseyenko A. S.**

**Abstract.** Every year 160,000 newly registered cases of colorectal cancer (CRC) are diagnosed in the United States and 57,000 patients die from this disease, making it the second leading cause of mortality from cancer pathology in adults. The disease begins as benign adenomatous polyps. Then it is transformed into an adenoma with high-grade dysplasia, which can lead to the development of invasive cancer. It is interesting to note early diagnosis of the disease is extremely important due to the efficacy of treatment in the early stages of CRC.

It has been known that the condition of the connective tissue contributes to tumor progression by influencing tumor invasion and metastasis. However, the role of extracellular matrix in CRC, as well as its potential prognostic role of metabolites that characterize the state of the extracellular matrix in oncoprocess, which affects the large intestine, should be made more precise.

The study was designed to evaluate features of connective tissue in patients with colorectal cancer.

The significant increase in elastase activity was found in patients with colorectal cancer. The analysis of its activity in patients with colorectal cancer showed that the highest elastase activity was observed in patients with the 4<sup>th</sup> stage of the disease. The lowest activity was revealed in patients with the 2<sup>nd</sup> stage of colorectal cancer.

It was found that patients with colorectal cancer had significantly elevated values of collagenolytic activity in comparison with healthy individuals. Dynamics of changes in collagenolytic activity in serum depending on the stage of the disease was similar to the dynamics of changes in the activity of elastase.

The elevation of collagenolytic activity in patients with colorectal cancer indicates enhanced proteolysis of collagen in this pathology. Thus, the increased collagenolytic activity of serum against the background of activated elastase favors rapid degradation of structural protein components of connective tissue, particularly collagen and elastin, which may make a further contribution to disease progression, tumor invasion, and formation of metastases. Proteolytic processes that involve components of extracellular matrix are more intense in the later stages of colorectal cancer.

It was found that the disintegration of the extracellular matrix included not only the protein component. The evaluation of carbohydrate components of connective tissue showed an increase in both glycosaminoglycans and one of the components of glycosaminoglycans, namely hyaluronic acid, in patients with colorectal cancer.

Taking into account the results stated above, we can make a conclusion that colorectal cancer is accompanied by the active destruction of the extracellular matrix, more severe in the later stages. The accelerated catabolism of components of the extracellular matrix may facilitate tumor invasion and formation of metastases.

Analysis shows that these indices may serve as a basis for prognostic assessment of the severity of this disease and reflects the important role of extracellular matrix in the pathogenesis and formation of metastases in colorectal cancer.

**Keywords:** colorectal cancer, collagenolytic activity, glycosaminoglycans, elastase, hyaluronic acid.

Стаття надійшла 30. 11. 2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування