Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

АГАБЕКОВ АЛЬБЕРТ ИКРАМБЕКОВИЧ

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ ОПУХОЛИ НА ОРГАНИЗМ В ДИНАМИКЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА ОБОДОЧНОЙ КИШКИ

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор Чеснокова Н.П.
Научный консультант:
доктор медицинских наук Барсуков В.Ю.

Саратов 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……5

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ПРИНЦИПАХ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ……...23

1.1. Оценка эпидемиологической ситуации по заболеваемости раком толстой кишки. Этиологические факторы и факторы риска развития аденокарциномы толстой кишки……...23

1.2. Общие закономерности генотоксического и эпигеномного действия канцерогенов при неоплазиях различной локализации……31

1.2.1. Признаки морфологического, биохимического и функционального атипизма опухолевых клеток и молекулярно-клеточные механизмы их формирования……..…….31

1.2.2. Онкогенетические и молекулярно-клеточные аспекты развития рака толстой кишки……...37

1.3. Закономерности развития системных паранеопластических расстройств при неоплазиях различной локализации, их роль в формировании прогрессирующего течения онкопатологии……...40

1.3.1. Роль недостаточности иммунологических механизмов защиты в нарушении элиминации опухолевых клеток и развитии стадий канцерогенеза……40

1.3.2. Динамические изменения цитокинового профиля крови при канцерогенезе как объективные критерии системного действия опухоли на организм……45

1.3.3. Активация липопероксидации – типовой процесс дезинтеграции структур и функции клеток при неоплазиях различной локализации, нарушений межклеточного взаимодействия……50

1.4. Традиционные принципы диагностики онкозаболеваний толстой кишки, перспективы оптимизации диагностических и прогностических критериев развития патологии……..52
1.4.1. Клинические и инструментальные методы диагностики неоплазии толстой кишки……...52
1.4.2. Лабораторные диагностические критерии рака ободочной кишки……56
1.4.3. Молекулярно-клеточные маркеры экспрессии протоонкогенов как диагностические критерии рака толстой кишки……....57
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДУЕМОГО КОНТИНГЕНТА ПАЦИЕНТОВ……..…62
ГЛАВА 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СИСТЕМНЫХ ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И ИЗМЕНЕНИЙ ГОРМОНАЛЬНОГО БАЛАНСА ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА ОБОДОЧНОЙ КИШКИ …….....76
3.1. Характер изменений белкового спектра крови, электролитного баланса, уровня глюкозы, мочевины, билирубина в крови в динамике распространения опухолевого процесса……...76
3.2. Активация процессов липопероксидации и недостаточность антиоксидантной системы крови – как патогенетические факторы дестабилизации мембран клеток и опухолевой прогрессии при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки……83
3.3. Показатели изменения уровня гормонов адаптации и роста на локальных и местнораспространенных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки……90
ГЛАВА 4. РЕАКТОГЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ, ИММУННОГО И ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСОВ В ДИНАМИКЕ

РАСПРОСТРАНЕНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА ОБОДОЧНОЙ КИШКИ – КАК ПРОЯВЛЕНИЯ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ ОПУХОЛИ НА ОРГАНИЗМ……..94
4.1. Показатели клеточного состава периферической крови в процессе распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки...94
4.2. Состояние иммунологических механизмов защиты: роль динамических изменений субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов периферической крови в патогенезе аденокарциномы ободочной кишки…….103
4.3. Диагностическое значение изменений цитокинового профиля крови в динамике распространения аденокарциномы ободочной кишки……...110
4.4. Динамические изменения содержания в крови молекул клеточной адгезии и показателей коагуляционного потенциала крови – как объективные критерии системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм……...115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….....120
Алгоритм диагностики системных метаболических и функциональных паранеопластических расстройств, сопутствующих развитию локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(a,в)N1-2Mo) стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки ……..…..144
ВЫВОДЫ……149
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……..……..152
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……...156

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы этиологии и патогенеза онкологических заболеваний, патогенетического обоснования новых принципов ранней диагностики и прогнозирования их течения, разработки высокоэффективных методов комплексной терапии онкопатологии остаются актуальными до настоящего времени.

В результате исследований отечественных и зарубежных авторов достигнуты определенные успехи в совершенствовании принципов адекватной терапии онкологических заболеваний, включающей оперативное лечение, полихимиолучевую терапию, симптоматическую терапию, что привело к повышению продолжительности жизни онкологических больных (Кныш В.И., 1997; Яицкий Н.А., Седов В.М., Васильев С.В., 2004; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2007; Чиссов В.И., 2009; Циммерман Я.С., 2012).

Значительно расширен и диапазон клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования пациентов с онкологическими заболеваниями (Мартынюк В.В., 2000; Бережная Н.М., 2009; Бурцев Д.В., 2012; Циммерман Я.С., 2012; Кондратова В.Н. и др., 2013). Тем не менее в последние годы частота онкопатологии продолжает возрастать, что требует дальнейшего углубления знаний об этиологии и патогенезе неоплазии и, следовательно, о патогенетическом обосновании новых методов ранней диагностики онкозаболеваний (Yamamoto M., Nakama H., 2000; Cotton P.B. et al., 2004; Tanaka T., 2009; Schwarzenbach H. et al., 2009).

Касаясь этиологии и патогенеза онкологических заболеваний, необходимо отметить, что современные представления об общих закономерностях развития неоплазии связаны прежде всего с ведущими достижениями онкогенетиков (Копнин Б.П., 2006, Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л., 2008; Дзасохов А.С., 2012; Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В., 2015).

Согласно общепринятым в настоящее время концепциям, канцерогенез является патологическим процессом, развивающимся на основе типовых

генетических или эпигеномных механизмов действия канцерогенов экзогенной или эндогенной природы (Кривцова О.М., 2016; Vasen H.F. et al., 1999; Erichsen H.C., Chanock S.J., 2004; Chan T.L. et al., 2006; Stratton M.R., Campbell P.J., Futreal P.A., 2009; Ligtenberg M.J. et al., 2009).

Установлено, что формирование злокачественного опухолевого роста – это многоступенчатый процесс накоплений мутаций в геноме, приводящий в конечном итоге к образованию атипичных, «асоциальных» малигнизированных клеток (Дзасохов А.С., 2012; Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В., 2015; Takahashi M., Wakabayashi K., 2004; Ilyas M., 2005; Tanaka T., 2009; Westphalen C.B. et al., 2014). Последние, как известно, обладают способностью к аутокринной стимуляции, самообеспечению неоангиогенеза в растущей опухоли, приобретают адгезивные, инвазивные свойства, способность к метастазированию за счет нарушения контактного взаимодействия (Копнин Б.П., 2002; Глушанкова Н.А., 2014; Guarino M., Rubino B., Ballabio G., 2007; Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P., 2012; Friedl P. et al., 2012).

В процессе формирования злокачественных новообразований в различных органах и тканях прослеживается стереотип стадийности канцерогенеза в виде онкогенной трансформации клеток, их последующих, пошаговых мутаций, приводящих к безудержной пролиферации опухолевых клеток и развития опухолевой прогрессии. (Лихтенштейн А.В., 1992; Копнин Б.П., 2000; Абелев, Г.И., 2008).

В основе динамической смены указанных стадий канцерогенеза лежат общие закономерности нарушения структуры и функций клетки, независимо от особенностей их морфофункциональной организации. Последние заключаются в экспрессии протоонкогенов и трансформации их в онкогены, ограничении синтеза белков-супрессоров, развитии пролиферации, связанной с подавлением активности супрессирующих генов и генов апоптоза. (Поспехова Н.И. и др., 2014; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2014; Рева И.В и др., 2015; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016).

При эпигеномном характере действия канцерогенов возникает нарушение регуляции клеточного роста при отсутствии первичных генных мутаций или хромосомных аберраций за счет изменения экспрессии белков рецепторов к факторам роста или белков обеспечивающих внутриклеточное проведение сигналов, стимулирующих пролиферативную активность клеток.

Следует отметить, что общепринятые в настоящее время концепции канцерогенеза, постулирующие значение экспрессии онкогенов, онкобелков, угнетение апоптотических реакций, реакций внутриклеточной репарации ДНК имеют не только теоретическую значимость, но и открывают определенные возможности реализации в практической онкологии новых методов диагностики, прогнозирования и комплексной терапии онкопатологии различной локализации, в частности рака толстой кишки.

Таким образом, в настоящее время достаточно четко определены генетические аспекты канцерогенеза, установлены общие закономерности прогрессирующего развития злокачественных неоплазий различных локализаций (Абелев Г.И., 2008; Kondo T. et al., 2006). Между тем, как известно, состояние гормонального баланса, специфических иммунологических механизмов защиты, характер неспецифических системных метаболических расстройств в значительной мере определяют исход неоплазий различной локализации, в том числе аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

В ряде исследований, проведенных на базе Саратовского государственного медицинского университета, впервые установлена патогенетическая взаимосвязь между динамическими изменениями системных паранеопластических расстройств и прогрессирующим развитием рака щитовидной и молочной желез (Зяблов Е.В., Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П., 2010; Злобнова, О.А., 2013).

В то же время, остаются практически не изучеными характер и механизмы системного действия опухоли на организм на локальных и

местнораспространенных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Вместе с тем рак толстой кишки занимает одно из лидирующих мест среди онкологических заболеваний по частоте распространения и летальных исходов как у мужчин, так и у женщин (Секачева М.И., Ивашкин В.Т., 2003; Хомутова Е.Ю, и др., 2010; Pickhardt P.J., Arluk G.M., 2007; Jemal A. et al., 2008). В связи с этим критерии паранеопластических расстройств не нашли достаточной реализации в современных принципах диагностики системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм, в оценке эффективности комплексного лечения и прогнозирования течения указанного заболевания.

Учитывая вышеизложенное, становится очевидным, что изучение системного действия опухоли на организм на ранних и поздних стадиях опухолевого процесса позволит в значительной мере расширить современные представления о патогенезе злокачественных опухолей толстого кишечника, дополнить существующие принципы классификационной характеристики аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на начальных этапах развития неоплазии, а также выявить новые диагностические и прогностические критерии опухолевой прогрессии при указанной патологии.

Степень разработанности

Проблемы ранней диагностики онкологических заболеваний и прогнозирования их течения остаются актуальными в связи с неуклонным ростом указанной патологии в различных странах мира.

В соответствии с достижениями онкогенетиков установлены этиологические факторы, факторы риска канцерогенеза, а также динамика формирования злокачественных неоплазий в виде развития последовательных стадий: малигнизации клеток, их активации и опухолевой прогрессии.

Установлены эпигеномные и генетические аспекты развития злокачественной неоплазии различной локализации, в том числе и при аденокарциноме толстой кишки.

К настоящему моменту достигнуты определенные успехи в изучении патогенеза рака толстой кишки, согласно которым выделяют наследственный семейный рак, развивающийся при семейном аденоматозе, наследственный неполипозный семейный рак, а также спорадический ненаследственный рак, на долю которого приходится около 94-96% заболеваний (Рахимова О.Ю., Александров В.Б., 2008; Burkitt D., 1971, Jamal A. et al., 2003). Тем не менее требуют дальнейшего изучения характер и механизмы системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм, установления закономерностей паранеопластических, иетаболических и функциональных расстройств в динамике развития злокачественной неоплазии, их роли в нарушении элиминации опухолевых клеток и прогрессирующем развитии заболевания.

Знание закономерностей системных паранеопластических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего тдела ободочной кишки позволит в значительной мере расширить диапазон диагностических и прогностических критериев развития указанной онкопатологии, а также оценки эффективности комплексной терапии заболевания.

Цель исследования

Установить закономерности развития системных паранеопластических расстройств на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, патогенетически обосновать новые диагностические и прогностические критерии системного действия опухоли на организм на основе мониторинга показателей метаболического, иммунного, цитокинового

статусов, коагуляционного потенциала крови и гормонального баланса в динамике распространения неоплазии.

Задачи исследования

1. Изучить характер и механизмы развития системных метаболических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки в соответствии с мониторингом показателей белкового спектра крови, электролитного баланса, уровня глюкозы, общего билирубина, мочевины в крови; установить их диагностическую значимость в оценке общесоматического статуса на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в) N1-2M0) стадиях онкопатологии.
2. Установить состояние процессов липопероксидации и антиоксидантной системы крови на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, их роль в дестабилизации биологических мембран клеток, развитии процессов аутоинтоксикации и метастазирования.
3. Установить характер нарушений баланса гормонов адаптации (адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортизол) и соматотропного гормона (СТГ) в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки и их роль в развитии метаболических расстройств.
4. Изучить динамику изменений клеточного состава периферической крови по показателям общего содержания в крови эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и лейкоцитарной формулы в процессе распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях онкозаболевания.
5. Изучить состояние специфических иммунологических механизмов защиты против малигнизированных клеток и закономерности изменения цитокинового профиля крови по показателям субпопуляционного состава

лимфоцитов (CD_3^+, CD_4^+, CD_8^+, CD_{19}^+ В-лимфоцитов), уровню иммуноглобулинов в крови (Ig G, Ig A, Ig M) и уровню провоспалительных цитокинов на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в) N1-2M0) стадиях развития рака ободочной кишки.

6. Изучить закономерности изменений показателей эндотелиальной дисфункции и коагуляционного потенциала крови в динамике распространения неоплазии, их диагностическое и прогностическое значения в оценке системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм.

7. Патогенетически обосновать новые принципы оценки характера системных паранеопластических расстройств на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на основе мониторинга показателей иммунного, цитокинового, метаболического, гормонального статусов, коагуляционного потенциала крови.

Научная новизна

Впервые установлены закономерности системных паранеопластических метаболических и функциональных расстройств на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, позволивших значительно расширить современные представления о патогенезе заболевания, патогенетически обосновать новые диагностические критерии системного действия опухоли на организм в процессе развития метастазирования малигнизированных клеток.

В дополнение к устоявшимся общим закономерностям канцерогенеза, включающим положения об экспрессии протоонкогенов, подавлении активности супрессирующих генов и генов апоптоза, впервые сделан акцент на системных паранеопластических расстройствах, сопутствующих развитию

локальных и местнораспространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки и определяющих необходимость адекватных принципов медикаментозной коррекции системных расстройств метаболического и иммунного статусов.

Развитие локальных и местнораспространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки закономерно сочетается с формированием синдрома системного воспалительного ответа с характерными изменениями гормонального баланса, метаболического, цитокинового и иммунного статусов.

Особенности методологического подхода к решению поставленных в работе цели и задач позволили впервые установить тот факт, что малигнизация клетки не есть еще онкологическое заболевание, а развитие стадий промоции и метастазирования опухолевых клеток связаны с недостаточностью механизмов их элиминации из кровотока на ранних стадиях заболевания. В связи с этим очевидно, что важным фактором патогенеза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, формирующимся на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания, является недостаточность клеточного звена иммунитета, проявляющаяся в виде лимфопении, моноцитопении, снижения содержания в крови субпопуляций CD_3^+, CD_4^+, CD_8^+, CD_{16}^+, соотношения CD_4^+/CD_8^+ Т-лимфоцитов. Затем к этим нарушениям уже на местнораспространенных стадиях заболевания присоединяется недостаточность В-зависимых иммунных реакций в виде падения уровня CD_{19}^+ В-лимфоцитов, иммуноглобулинов классов G, A, M в крови.

Впервые показано, что важная роль в развитии метаболических расстройств, реактогенных изменений клеточного состава периферической крови, недостаточности клеточного и гуморального звеньев иммунитета при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки отводится развитию гормонального дисбаланса в виде гиперпродукции АКТГ, кортизола, вызывающих лизис и апоптоз лимфоидной ткани, при одновременной

динамической смене реакции адаптации и повреждения с присоединением различных функциональных расстройств. Впервые выявлено сохранение принципа «обратной связи» между возрастанием уровня кортизола в крови на местнораспространенных стадиях заболевания и ослаблением продукции АКТГ, а также значение ростстимулирующих эффектов высоких концентраций СТГ.

К числу пусковых механизмов развития изученной онкопатологии относится и свободнорадикальная дестабилизация структур клеток различной морфофункциональной организации. Признаками деградации биомембран клеток являются избыточное накопление в крови промежуточных продуктов липопероксидации, молекул средних масс, недостаточность ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови, снижение перекисной резистентности эритроцитов.

Дестабилизация биомембран клеток, усиление экспрессии цитоплазматических, мембранных онкобелков обусловливают активацию индуцибельного синтеза провоспалительных цитокинов IL-1, TNF α, IL-6, а также GCSF, динамические изменения которых в крови свидетельствует о прогрессирующем течении заболевания.

Результаты проведенных исследований позволили значительно расширить современные представления о патогенезе аденокарциномы толстой кишки, сформулировать патогенетическую взаимосвязь между развитием начальных стадий опухолевого процесса (малигнизацией и активацией клеток) и формированием системных паранеопластических расстройств. Последнее нашло отражение в разработанной нами схеме патогенеза изучаемой патологии.

Практическая значимость

Комплексные клинико-лабораторные исследования изменений клеточного состава периферической крови, иммунного, цитокинового,

метаболического статусов, а также коагуляционного и сосудистого звеньев систем гемостаза при локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки позволили впервые сформулировать новые принципы оценки тяжести системного действия опухоли на организм.

К числу неспецифических расстройств на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания относятся реактогенные изменения клеточного состава периферической крови, метаболические признаки синдрома системного воспалительного процесса, недостаточность Т-зависимого иммунитета, антиоксидантной системы крови, усиление индуцибельного синтеза провоспалительных цитокинов. Полученные данные позволяют расширить традиционные диагностические критерии метастазирования опухолевых, а также рекомендовать включение в комплексную терапию аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки использование антиоксидантов, мембранопротекторов, иммуномодуляторов еще до оперативного вмешательства, а также в процессе последующей традиционной терапии.

На основании результатов собственных исследований системных паранеопластических расстройств сформулирован алгоритм диагностики и анализа системных паранеопластических расстройств при аденокарциноме ободочной кишки, который может быть использован в дополнение к традиционным клинико-морфологическим классификациям неоплазий (Собин Л.Х. и др., 2011), отражающим лишь морфологические критерии степени распространения опухолевого процесса и характер дифференцировки атипичных клеток, но не особенности системного действия опухоли на организм.

Обнаруженные в процессе клинико-лабораторного обследования пациентов развитие нейтрофильного лейкоцитоза со сдвигом влево, анемия, тромбоцитопения, лимфо- и моноцитопении, подавление иммунных реакций,

обеспечиваемых Т-, а затем В-системами лимфоцитов, диспротеинемия свидетельствуют о прогрессирующем течении заболевания или о недостаточной эффективности лечения.

Мониторинг указанных лабораторных показателей позволяет дать объективную оценку общесоматического статуса пациентов, определить необходимость адекватной медикаментозной коррекции, направленной на нормализацию метаболического и иммунного статусов уже в момент поступления в стационар на дооперационном этапе подготовки больных или на фоне традиционного лечения патологии.

Связь с планом научного направления

Диссертационное исследование выполнено в рамках научного направления кафедры патологической физиологии им. академика А.А. Богомольца ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России «Патогенетическое обоснование диагностических и прогностических критериев системного действия опухоли на организм в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки», номер государственной регистрации АААА-А16-116040110005-7.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Формирование локальных и местнораспространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки закономерно сочетается с развитием системного действия опухоли на организм в виде типовых нарушений метаболического статуса, свойственных синдрому системного воспалительного ответа, а также прогрессирующей гипогликемии, расстройств электролитного баланса.

Ранними признаками метаболических расстройств при локальных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки являются развитие гипогликемии, возрастание уровня острофазных белков (С-реактивного белка и фибриногена) в крови.

Местнораспространенные стадии аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки характеризуются возникновением гипоальбуминемии, диспротеинемии, гиперглобулинемии, прогрессирующим возрастанием уровня С-реактивного белка и фибриногена в крови. Одновременно возникают гипонатриемия и гипокалиемия.

Содержание мочевины в крови на локальных и местно-распространенных стадиях опухолевого процесса остается в пределах нормы, что косвенно свидетельствует об отсутствии изменений в реакциях переаминирования аминокислот в орнитиновом цикле гепатоцитов.

2. Одной из закономерностей системных метаболических паранеопластических расстройств является активация процессов липопероксидации, обнаруживающая параллелизм с нарастающей аутоинтоксикацией по мере распространения неоплазии, на что указывает прогрессирующее возрастание содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации - малонового диальдегида (МДК), диеновых конъюгатов (ДК) и молекул средних масс (МСМ) – одного из показателей аутоинтоксикации.

Ведущим патогенетическим фактором свободно-радикальной деградации клеток различной морфофункциональной организации является недостаточность ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови.

3. Важным патогенетическим фактором паранеопластических расстройств на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки является развитие гормонального дисбаланса в виде фазных изменений продукции гормонов

адаптации АКТГ, кортизола, а также СТГ, обуславливающих динамические изменениями метаболического статуса.

4. Клеточный состав периферической крови претерпевает определенные изменения уже при развитии локальных стадий опухолевого процесса в виде лимфопении, моноцитопении, свидетельствующих о недостаточности фагоцитарной активности и иммунологических механизмов защиты, направленных, в частности, на элиминацию опухолевых клеток.

5. На локальных стадиях опухолевого процесса выявлена значимость дисрегуляции в субпопуляциях Т-систем лимфоцитов, на что указывают снижение уровня CD_3^+ Т-лимфоцитов за счет CD_4^+ Т-лимфоцитов, при одновременном падении соотношения CD_4^+/CD_8^+ Т-лимфоцитов. В то же время обнаружено снижение CD_{16}^+ Т- лимфоцитов, обеспечивающих антителозависимый цитолиз клеток, несущих генетически-чужеродную информацию, а вместе с макрофагами - и первую линию защиты против малигнизированных клеток. На локальных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки функциональное состояние В-системы лимфоцитов не изменяется в соответствии с изученными нами показателями уровня CD_{19}^+ В-лимфоцитов, а также Ig G, Ig A, Ig M в крови. Указанный факт свидетельствует о том, что нарушения элиминации опухолевых клеток на начальных стадиях формирования неоплазии не связано с развитием В-зависимого иммунодефицита.

Формирование местнораспространенных стадий заболевания сочетается с прогрессирующей недостаточностью клеточного звена иммунитета, о чём свидетельствует снижение уровня всех исследуемых субпопуляций лимфоцитов крови (CD_3^+, CD_4^+, CD_8^+, CD_{16}^+). Одновременно выявлена и недостаточность гуморального звена иммунитета, на что указывает уменьшение содержания в крови субпопуляции CD_{19}^+ В-лимфоцитов, а также уровня Ig G, Ig A, Ig M. Таким образом, одним из ведущих патогенетических факторов развития стадии активации малигнизированных клеток или

промоции, характеризующейся экспрессией новых признаков атипизма, является недостаточность системных механизмов элиминации атипичных клеток.

6. Характерными признаками антигенной стимуляции моноцитарно-макрофагальной, лимфоидной систем, эндотелиальных, тучных и других клеток микроокружения неоплазии являются стабильное усиление индуцибельного синтеза и соответственно увеличение содержания в крови провоспалительных цитокинов (IL-1, TNFα), а также GCSF на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Уровень IL-6 в крови возрастает лишь при развитии местнораспространенной формы патологии, что, безусловно, имеет диагностическое значение в комплексе с другими метаболическими показателями.

7. На локальных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки появляются признаки эндотелиальной дисфункции в виде резкого увеличения содержания в крови P- и E-селектинов, молекул клеточной адгезии (SICAM), обнаруживающими параллелизм с гиперкоагуляционными сдвигами. На местнораспространенных стадиях неоплазии отмечено ещё большее возрастание содержания в крови адгезивных молекул, при этом гиперкоагуляционные сдвиги сменялись появлением признаков гипокоагуляции.

8. Прогностически-неблагоприятными критериями перехода локальных стадий онкопатологии в местнораспространенные являются прогрессирующая лимфопения, моноцитопения, недостаточность Т-системы лимфоцитов с присоединением недостаточности В-системы лимфоцитов (на местнораспространенных стадиях заболевания), не обеспечивающие элиминацию опухолевых клеток и предопределяющие возможность их последующего метастазирования. Стабильно высокий уровень IL-1, GCSF, TNFα и возрастание содержания в крови IL-6 на местнораспространенных

стадиях заболевания свидетельствуют о продолжающейся стимуляции индуцибельного синтеза цитокинов, за счет онкоантигенов или аутоантигенов, формирующихся в зоне неоплазии.

Личный вклад автора

Личный вклад заключается в разработке дизайна исследования, непосредственном участии в его проведении, комплексном обследовании пациентов, рандомизации групп наблюдения, статистическом анализе и интерпретации результатов исследования, изложении полученных фактических данных в материалах диссертационного исследования, статьях, монографиях, формулировке выводов и практических рекомендаций, а также разработке схемы патогенеза и алгоритма диагностики аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Соответствие паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.03.03 – патологическая физиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, в частности пунктам 1, 2, 5, 6, 8 и 9 паспорта специальности.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в практику онкологического отделения с применением хирургических методов лечения и хирургического отделения НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Саратов II ОАО «РЖД».

Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре патологической физиологии им. академика А.А. Богомольца для студентов 3 курса лечебного, педиатрического, медико-профилактического факультетов, а также на методических циклах усовершенствования врачей по специальностям «онкология», «хирургия» на кафедре хирургии и онкологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. Разумовского Минздрава России».

Публикации

По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в которых изложены основные результаты исследования, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации. Главы собственных исследований отражены в содержании монографий «Канцерогенез, цитокины и иммунитет: патогенетическая взаимосвязь в динамике развития неоплазий»; «Цитокины: биологическая роль в развитии реакций адаптации и повреждения в условиях нормы и патологии различного генеза». Имеются 2 рационализаторских предложения используемых в практической онкологии.

Апробация работы и внедрение в практику ее результатов

Материалы диссертационного исследования доложены или представлены на Международной научно-практической конференции «Современный взгляд на будущее науки» (Уфа, 2014); IX Международной научно-практической конференции «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия» (Новосибирск, 2015); XII Международной научно-практической конференции «Современные

концепции научных исследований» (Москва, 2015); Международной научно-практической конференции «Научные аспекты современных исследований» (Уфа, 2015); Международной научно-практической конференции «Глобализация науки: проблемы и перспективы» (Уфа, 2015); Международной научно-практической конференции «Новая наука: стратегии и вектор развития» (Стерлитамак, 2015); Международной научно-практической конференции «Интеллектуальный и научный потенциал XXI века» (Казань, 2016).

Результаты работы представлены на совместных заседаниях кафедр патологической физиологии им. А.А. Богомольца и хирургии и онкологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России в 2014–2017 гг., на заседании научной комиссии по фундаментальным проблемам медицины с участием членов проблемной комиссии по хирургии, анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского.

Материалы диссертации в виде центральных публикаций, а также изданные монографии используются в учебном процессе на кафедрах хирургии и онкологии ФПК и ППС, патологической физиологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России.

Алгоритм диагностических критериев по оценке характера паранеопластических расстройств при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки, разработанный на основе диссертационного исследования, а также рационализаторские предложения используются в клинической практике.

Степень достоверности результатов исследования

Высокая достоверность результатов исследований обеспечена достаточным объемом и адекватным подбором групп наблюдения,

использованием современных методов сбора и статистической обработки информации, сопоставимостью полученных результатов исследования с литературными данными.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 187 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, который включает в себя 138 отечественных и 184 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 15 таблицами, 20 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ПРИНЦИПАХ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

1.1. Оценка эпидемиологической ситуации по заболеваемости раком толстой кишки. Этиологические факторы и факторы риска развития аденокарциномы толстой кишки

Рак толстой кишки занимает одно из лидирующих мест в структуре общей онкопатологии в различных странах мира. Так, по данным МНИОИ им. П.А. Герцена, в 1995 году в России показатель заболеваемости раком толстой кишки составил 49,5 на 100 тыс. населения, в 2000 году – уже 65,2, а в 2005 году достиг 84,3 (Воробьев Г.И. и др., 2010). В общей структуре онкозаболеваний в Российской Федерации рак толстой кишки занимает 4-е место у мужчин и 3-е место – у женщин (Кныш В.И., 1997; Яицкий Н.А., Седов В.М., Васильев С.В., 2004; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2007; Чиссов В.И., 2009). В 2012 г. в России зарегистрировано 34 238 новых случаев рака ободочной кишки. Прирост абсолютного числа заболевших с 2007 по 2012 г. составил 11% (Давыдов М.И., 2014). В 2016 году больные раком ободочной кишки составили 5,8% от общего числа онкологических больных (3-е место). Опухоль активно выявляется у 10,1% больных с впервые установленным диагнозом. У 46,3% больных наблюдается I–II стадия опухолевого процесса, у 23,9% – III стадия, у 27,7% – IV стадия (Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., 2017).

Заболеваемость раком ободочной кишки за последнее десятилетие неуклонно растет и за рубежом. Так, в Германии ежегодно выявляют 50 тыс. первичных очагов колоректального рака (КРР). Особенно велика заболеваемость раком толстой кишки в Дании, Ирландии и Нидерландах и

составляет от 58 до 61 случая на 100 тыс. населения у мужчин и 40–43 пациента на 100 тыс. – у женщин (Белоусова Е.А., 2002; Вермель А.Е., 2004; Белялова К.С., Белялов Ф.И., 2005; Циммерман Я.С., 2012).

Этиологические факторы малигнизации клеток

Следует отметить, что в подавляющем большинстве случаев (93–96%) всех неоплазий толстого кишечника присутствует спорадическое развитие патологии, и только в 5–6% случаев наблюдений КРР выявлена роль наследственного фактора.

В соответствии с многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных авторов в изучении роли этиологических факторов в патогенезе неоплазий различной локализации сформулированы достаточно четкие характеристики канцерогенов, их свойств, механизмы генотоксического и эпигеномного действия, определяющие формирование процессов малигнизации клетки.

В настоящее время в зависимости от природы этиологического фактора выделяют следующие виды канцерогенеза: химический, радиационный, ультрафиолетовый, вирусный (Рева И.В. и др., 2014; Accardi R. et al., 2006; Bedard K.M. et al., 2008; Van Doorslaer K. et al., 2011).

Как известно, химический канцерогенез связан с воздействием на организм патогенных факторов с различной биологической активностью, именуемых канцерогенами.

Относительно механизмов развития первой стадии химического канцерогенеза – малигнизации клеток – следует выделить два типа агентов, индуцирующих канцерогенез: это инициаторы и промоторы. Инициаторы обязательно вызывают канцерогенез даже при однократном действии и в малых дозах. В то же время действие промоторов до определенной стадии обратимо, а инициаторов – необратимо. «Сильные» канцерогены обладают и

промоторными и инициирующими свойствами, а промоторы проявляют канцерогенную активность лишь при длительном действии высоких доз (Шабад Л.М., 1973; Турусов В.С., Томатис Л., 1997; Кобляков В.А., 1998; Белицкий Г.А., 1999). Практически все канцерогены обладают генотоксическим действием или в ряде случаев вызывают эпигеномные метаболические сдвиги проканцерогенного характера (Лихтенштейн А.В, 1992; Рева И.В. и др., 2014).

Различают химические канцерогены прямого и непрямого действия. Что касается канцерогенов прямого действия, включающих N-нитрозоалкилмочевины (НАМ), этил- и метил-метансульфонат (ММС), N-метил-N-нитронитрозогуанидин (МННГ) азотистый иприт, диэпоксибутан, этиленимин и других, то их общим свойством является распад в организме с образованием высокоактивных соединений с избыточным положительным зарядом (например хлорэтиламина или эпоксида). Положительная электрофильная группа этих соединений взаимодействует с отрицательно заряженными нуклеофильными группами молекул ДНК с образованием стабильной ковалентной связи. При репликации ДНК нуклеотид в комплексе с канцерогеном может быть неправильно считан, что приводит к развитию мутаций (Албертс Б. и др., 1986).

Канцерогены прямого действия могут иметь и эндогенное происхождение, образуясь в процессе аномального метаболизма гормонов, биологически-активных соединений, а также из различных химических соединений, содержащихся в продуктах питания, воде, лекарственных препаратах. Кроме того, вторичные амины в толстой кишке при участии микрофлоры способны переводить нитраты в нитриты (Белицкий Г.А., 1999).

Малореакционноспособные соединения, так называемые непрямые канцерогены, приобретают способность индуцировать канцерогенез после метаболических превращений в организме с участием тканевых неспецифических оксидаз. При этом одной из первых реакций является

взаимодействие проканцерогена с изоформами цитохрома р-450. Именно на этом этапе метаболической трансформации проканцерогенов при участии микросомальных монооксигеназ образуются электрофильные метаболиты с генотоксическим действием (Кобляков В.А., 1990).

К числу химических проканцерогенов (или канцерогенов непрямого действия) относятся полициклические ароматические углеводороды, содержащиеся в почве, воздухе, воде.

Наряду с указанными генотоксическими канцерогенами, выделяют группу канцерогенов промоторного типа, или негенотоксических канцерогенов, вызывающих развитие опухолевого процесса при длительном воздействии на организм в высоких дозах. Канцерогены этой группы тормозят апоптоз, стимулируют клеточную пролиферацию, нарушают межклеточное взаимодействие. Устранение действия промоторов может привести к остановке канцерогенеза или даже обратному развитию опухоли.

К группе негенотоксических канцерогенов могут быть отнесены гормоны, пестициды, волокнистые материалы, природные и синтетические селикаты, содержащие окиси кремния.

Большое значение в механизмах развития патологических процессов, в частности канцерогенеза, придается свободным радикалам (Свистунов А.А., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., 2010; Попков В.М., Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю., 2012). К числу чрезвычайно реактогенных окислителей, образующихся в организме, относятся первиные и вторичные свободные радикалы. Между тем в избыточных концентрациях свободные радикалы обладают мутагенным и эпигеномным действием, вызывая деградацию всех структур клеток с последующим развитием апоптоза, некроза клеток, а в ряде случаев обеспечивают костимуляцию канцерогенам (Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П., Плохов В.Н., 2007).

Как указывалось ранее, наряду с химическим канцерогенезом выделяют вирусный канцерогенез, индуцируемый ДНК- и РНК-содержащими вирусами (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П, 1999; Рева И.В. и др., 2014).

Однако значимость вирусов в индукции канцерогенеза ограничена определенными формами онкозаболеваний. Так, доказана роль вирусов в этиологии лимфомы Беркита, рака носоглотки (ДНК-содержащий вирус Эпштейна – Барр), рака шейки матки (вирус папилломы), Т-клеточного лейкоза взрослых (ретровирус HTLV-1). В последние годы немаловажная роль в развитии онкопатологии желудочно-кишечного тракта отводится *Helicobacter pylori*, для тела шейки матки этиологическим фактором является вирус папилломы человека (HPV), который к настоящему времени благодаря современным генетическим исследованиям найден практически во всех видах опухолей различных органов и тканей человека (Рева И.В. и др., 2014; Zur Hausen H., 2009; Borgogna C. et al., 2014). В развитии радиационного и ультрафиолетового канцерогенеза существенно воздействие физических факторов внешней среды (Овсянников, В.А., 2005; Рева И.В. и др., 2014; Accardi R. et al., 2006; Bedard K.M. et al., 2008; Van Doorslaer K. et al., 2011).

Факторы риска развития рака толстой кишки наследственной и приобретенной природы

Важнейшим фактором риска развития КРР является наличие хронического воспалительного процесса в толстом кишечнике, особенно язвенного и гранулематозного колита. Рак ободочной кишки на фоне язвенного колита чаще возникает у лиц молодого возраста с длительным течением патологии (более 10 лет). Клинически опухоль трудно диагностировать, поскольку она маскируется симптомами колита.

Болезнь Крона ободочной кишки (гранулематозный колит) значительно реже является фактором риска развития КРР, чем язвенный колит, но в десятки

раз чаще, чем в общей популяции. Как и при язвенном колите, опухоли чаще развиваются в молодом возрасте, носят множественный характер и локализуются преимущественно в проксимальных отделах ободочной кишки (Мартынюк В.В., 2000; Тымкив М.З. и др., 2012).

Предшествующая онкопатология толстого кишечника, злокачественные новообразования молочной железы и репродуктивных органов женщин обнаруживаются примерно у 23% всех больных КРР (Schrag D., Weeks J., 1999).

Наряду с указанными факторами риска развития онкопатологии толстой кишки следует отметить и роль наследственного фактора.

Как известно, наиболее распространенной наследственной формой КРР является синдром Линча (в 3% случаев), связанный с наследственными мутациями генов системы репарации неспаренных оснований (mismatch repair) MMR, в частности MLH1, MLH2, MSH6, PMS1, PMS2, MLH3 (Поспехова Н.И. и др., 2014, Kastrinos F., Syngal S., 2011).

Другой клинической разновидностью наследственной формы КРР является семейный аденоматоз толстой кишки (САТК) (Поспехова Н.И. и др., 2014), характеризующийся развитием множественных аденоматозных полипов, высоким индексом малигнизации. Развитие САТК связано с герминальными мутациями в генах APC и MYH (Шелыгин Ю.А. и др., 2013).

Клинико-генетическая вариабельность наследственных форм КРР свидетельствует о необходимости ДНК-диагностики у пациентов с подозрением на семейный аденоматоз толстой кишки или синдром Линча (Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В., 2015).

Факторами риска развития колоректального рака являются и такие наследственные формы патологии, как диффузный семейный полипоз, синдром Гарднера – Тернера, синдром Пейтца – Егерса, болезнь Тюрка (Мартынюк В.В., 2000).

Предикторами злокачественной трансформации эпителия толстого кишечника (в 90% случаев) являются аденоматозные полипы (Мельников Р.А., Ковалев В.А., Правосудов И.В., 1989; Циммерман Я.С., 2012).

Наиболее частыми типами полипов толстой кишки выступают аденоматозные, ювенильные и гиперпластические полипы (Нефедова Н.А., Мальков П.Г., 2015; Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В., 2015; Snover D.C. et al., 2010; Arends M.J., 2013).

Среди аденоматозных полипов, чаще подвергающихся малигнизации, выделяют тубулярные, тубулярно-ворсинчатые и ворсинчатые. Причем риск малигнизации полипов возрастает по мере увеличения размеров полипов и их ворсинчатости (Мартынюк В.В., 2000). В соответствии с данными современной литературы установлено, что в случаях развития ворсинчатой аденомы размерами более 2 см частота малигнизации составляет около 55%, в то время как при размерах ворсинчатой аденомы до 1 см – 10%. При тубулярной аденоме менее 1 см малигнизация отмечается у 1% пациентов.

Ювенильные полипы характеризуются значительно меньшей способностью к трансформации и малигнизации по сравнению с аденоматозными и в то же время обладают достаточно выраженной способностью секретировать слизь.

Гиперпластические полипы размерами менее 0,5 см требуют более тщательного гистологического исследования, их роль как факторов риска развития колоректального рака неоднозначна.

В ряде исследований сформулирована триада факторов риска формирования колоректального рака, которая включает наследственную предрасположенность, преклонный возраст и наличие аденоматозных полипов (Циммерман Я.С., 2012). Резко возрастает частота развития колоректального рака у пациентов старше 40 лет. Так, обнаруживается параллелизм формирования КРР и частототы развития аденоматоза слизистой толстого кишечника в 20–35% в возрасте 50–59 лет.

В подавляющем большинстве случаев рак толстой кишки развивается из аденом (Федоров В.Д., 1987; Циммерман Я.С., 2012; Read T.E., Kodner I.J., 1999). Причем с возрастом увеличивается количество полипов, располагающихся в восходящей и поперечной ободочной кишках.

К факторам риска развития рака толстой кишки необходимо отнести: избыток в пищевом рационе жиров животного происхождения, недостаточность в пище растительной клетчатки, избыточная калорийность пищи и др. Способствовать развитию рака толстой кишки могут и поведенческие реакции в виде недостаточной двигательной активности, курение, сидячий образ жизни, а также дисбактериоз, нарушения двигательной активности кишечника, запоры (Ногаллер А.М., 2003; Хышиктуев Б.С., Каюкова Е.В., 2013; Crowe F.L. et al., 2008; Shannon J. et al., 2009).

Установлено, что одним из факторов риска развития злокачественной неоплазии в толстой кишке является избыточное поступление в организм продуктов, содержащих значительное количество рафинированных жиров - источников канцерогенных метаболитов – копростанола, дезоксихолевой и литохолевой кислот, вторичных желчных кислот. Избыточное образование этих метаболических субстратов способствует развитию копростаза, в условиях которого под влиянием кишечной микрофлоры возникает избыточное образование продуктов липопероксидации, N-нитросоединений, гетероциклических ароматических аминокислот, полиаминов. Последние, как известно, обладают канцерогенным или промоторным действием.

В ряде работ установлен генотоксический эффект избыточных концентраций желчных кислот в пище (Ногаллер А.М., 2003).

Чрезмерное содержание жиров в пище стимулирует секрецию желчных кислот в просвет желудочно-кишечного тракта. В свою очередь, желчные кислоты являются потенциальными канцерогенными веществами из-за

структурных сходств с полициклическими углеводородами-промоторами канцерогенеза (Мартынюк В.В., 2000).

Понижают риск развития указанной онкопатологии витамин D, кальций, ацетилсалициловая кислота, малокалорийная пища с высоким содержанием клетчатки.

Указанный перечень этиологических факторов и факторов риска не позволяет, к сожалению, установить причинно-следственную связь между инициирующим воздействием патогенного фактора и малигнизацией клеток ни на молекулярно-клеточном, ни на органном уровнях. Тем не менее исследования в этом плане продолжаются.

1.2. Общие закономерности генотоксического и эпигеномного действия канцерогенов при неоплазиях различной локализации

1.2.1. Признаки морфологического, биохимического и функционального атипизма опухолевых клеток и молекулярно-клеточные механизмы их формирования

Данные литературы убедительно свидетельствуют о том, что малигнизация клеток, имеющих изначально различную морфофункциональную организацию, приводит к формированию морфологического, функционального и метаболического атипизма.

Характерные признаки атипизма опухолевых клеток систематизированы в работах ряда отечественных и зарубежных авторов (Копнин Б.П., 2006, Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л., 2008). Последние заключаются в дедифференцировке клеток, пошаговом развитии мутаций, обеспечивающих безудержную пролиферацию клеток, снижение чувствительности малигнизированных клеток к антипролиферативным сигналам, нарушение

контактного взаимодействия, иммортализацию и другие биологические особенности атипичных клеток.

Как известно, для онкогенно-трансформированных клеток характерны нарушения клеточной дифференцировки. Однако следует отметить, что в ряде случаев дифференцировка клеток может сохраняться, не влияя при этом на формирование фенотипа злокачественной клетки. В то же время в процессе опухолевой прогрессии возможна дальнейшая дифференцировка клеток. Тем не менее утрата тканевой специфичности и антигенное упрощение являются характерными признаками эпителиальных опухолей (Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л., 2008).

Нарушения дифференцировки неопластических клеток являются следствием изменений регуляции клеточного цикла (Копнин Б.П., 2002).

Для опухолевых клеток характерны мутации, обеспечивающие постоянную стимуляцию сигнальных путей активации Cdk4(6) и Cdk2 и блокаду путей передачи сигналов на «чейкпойнты» (пропускные пункты). Перманентная стимуляция размножения клетки и нечувствительность к действию ростингибирующих цитокинов приводит к блокированию или извращению процессов дифференцировки (Zhu L., Skoultchi A.I., 2001).

Установлено, что важнейшими фазами митотического цикла являютя G0, G1-фаза , G2-фаза, S1-фаза , которые соответственно обозначают : G1-фаза (подготовка к синтезу ДНК), S1-фаза (период репликации ДНК), G2-фаза (подготовка к митозу), которая завершается митозом. Дочерние клетки могут временно выйти из митотического цикла в G0-фазу или вновь вступают в митоз под влиянием циклинзависимых киназ. Последние включают каталитическую субъединицу (Cdk) и регуляторную субъединицу. Выход клетки из стадии покоя в G1 определяется образованием комплексов циклинов D (D1-D3) с Cdk4 или Cdk6, с последующим образованием комплексов циклина E с Cdk2 при переходе из фазы G1 в S-фазу (Sherr C.J., Roberts J.M.,

1999; Roovers K., Assoian R.K., 2000; Blume-Jensen P., Hunter T., 2001; Evan G.I., Vousden K.H., 2001).

Снижение чувствительности малигнизированных клеток к антипролиферативным ростингибирующим сигналам формируется под влиянием цитокинов В- и Т-систем лимфоцитов в процессе контактного взаимодействия клеток. Пролиферация трансформированных клеток не останавливается при неблагоприятных условиях среды – дефиците нуклеотидов.

Свойственное нормальным клеткам контактное ингибирование размножения, т.е. прекращение процессов пролиферации при установлении контакта с клетками микроокружения, связывают с усилением дерепрессии опухолевых супрессоров p16ink альфа и p27kip1, вызывающих экспрессию Е-кадхерина и остановку клеточного цикла (Глушанкова Н.А. и др., 2014).

Потеря контактного ингибирования опухолевыми клетками связана с инактивацией супрессирующих генов Е-кадхерина, p53, pRb и / или активацией протоонкогенов Ras, повышением экспрессии Myc-цикла (Глушанкова Н.А. и др., 2014; Cavallaro U., Christofori G., 2004; Guarino M., Rubino B., Ballabio G., 2007; Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P., 2012; Friedl P. et al., 2012).

В настоящее время не вызывает сомнения то, что анаплазия клеток злокачественных опухолей, их инфильтрирующий рост и метастазирование обусловлены потерей экспрессии Е-кадхерина малигнизированной клеткой, нарушением его локализации в межклеточных контактах и взаимодействия с β-катенином.

Следующим признаком атипизма клеток является отсутствие репликативного старения или иммортализации. Сегодня очевиден факт генетически детерминированного числа митотических циклов для различных клеток (число Хейфлика), составляющего 60–80 делений. В то же время для формирования из одной малигнизированной клетки-родоначальницы вначале

опухоли, а затем метастазов потребуется значительно большее число митотических циклов, что свидетельствует о нарушении в опухолевых клетках этого «счетно-ограничительного» механизма.

Установлено важное значение в митотической активности клеток концевых участков хромосом – теломеразных участков ДНК, представленных в виде монотонно повторяющихся TTAGGG общей длиной в сотни и тысячи оснований (Егоров Е.Е., 2010). При пролиферации многих соматических клеток вследствие неполной репликации теломерной ДНК возникает укорочение концевых участков. Короткие теломеры являются причиной репликативного старения, остановки пролиферации клеток. Теломерная ДНК замыкается в кольцо или вместе с теломер-связывающими белками образует петли (Оловников А.М., 1971; Greider C.W., Blackburn E.H., 1996). В регуляции длины теломер участвуют многие факторы (метилирование ДНК и гистонов, ацитилирование гистонов). Однако механизмы регуляции длины теломер до настоящего момента остаются не выясненными.

В «бессмертных» клетках (ряде стволовых и раковых) обнаружен фермент – теломераза, препятствующий концевой недорепликации ДНК, удлиняющий теломеры. Теломераза является обратной транскриптазой (Оловников А.М., 1971; Hayflick L., Moorhead P.S., 1961; Yegorov Y.E. et al., 1999). Вместе с тем примерно в 10% опухолей различной локализации существует и альтернативные способы удлинения теломер (ALT) без участия теломеразы (Muntoni A., Reddel R.R., 2005; Henson J.D. et al, 2005; Liu L. et al., 2007).

Теломеразная активность в условиях нормы репрессируется в большинстве тканей в процессе их дифференцировки, но может сохраняться в мезотелиальных клетках человека (Ksiazek K. et al., 2007). В большинстве случаев онкопатологии (при раке желудка, толстой кишки, печени, почек, простаты) теломеразная активность растет по мере развития опухоли и дедифференцировки ее клеточных элементов (Егоров Е.Е., 2007).

Одним из признаков атипизма малигнизированных клеток является снижение потребности опухолевых клеток в ростстимулирующих сигналах и независимость от субстрата. В отличие от нормальных клеток, малигнизированные клетки пролиферируют в полужидкой среде, не прекрепляясь к субстрату. Подавление пролиферации в нормальных неприкрепленных к субстрату клетках связано с активацией гена p53, а также неспособностью ростовых факторов стимулировать в неприкрепленных клетках ген ECDK2, ответственный за вход клетки в S-фазу. Пролиферация опухолевых клеток вне зависимости от состава среды, при отсутствии в ней ростовых факторов и прикрепления трансформированных клеток к субстрату свидетельствует о формировании аутокринной стимуляции пролиферативных процессов на фоне действия канцерогенов.

Одним из проявлений функционального атипизма является способность малигнизированных клеток стимулировать процессы неоангиогенеза за счет продукции ряда цитокинов (Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016).

Возникновение морфологического атипизма, локомоторного фенотипа проявляется в нарушении формирования межклеточных контактов, взаимосвязи с субстратами за счет изменения структуры цитоскелета, снижения адгезивных свойств опухолевых клеток. В основе указанных изменений фенотипа малигнизированных клеток лежит усиление экспрессии ряда онкогенов, являющихся одновременно и митогенами, и мотогенами, в частности HGF/SF, EGF, FGF.

Снижение адгезивных свойств малигнизированных клеток, проявление локомоторного фенотипа, продукция протеолитических ферментов определяют новые биологические признаки онкотрансформированной клетки – способность к инвазии и метастазированию.

Характерным признаком опухолевых клеток, обеспечивающим, в частности, их иммортализацию, является подавление апоптоза (Green D.R., 1998; 2000).

Реализация апоптоза обеспечивается цистеиновыми протеиназами – каспазами, именуемыми эффекторными, или «казнящими», каспазами (Roovers K., Assoian R.K., 2000; Blume-Jensen P., Hunter T., 2001; Evan G.I., Vousden K.H., 2001). Последние расщепляют ингибиторы нуклеаз, белки цитоскелета ядра, что приводит к фрагментации ДНК и распаду клетки. Активация эффекторных каспаз возникает или в процессе связывания Fas-лигандов с Fas-рецепторами клетки, или в процессе альтернативного митохондриального пути. Последний инициируется под влиянием различных патогенных факторов, повышающих проницаемость митохондриальных мембран и обеспечивающих выход в цитоплазму клетки цитохрома С, протеазы AIF (Apoptosis inducing factor). Последние вызывают деградацию клеток.

Проницаемость митохондриальных мембран регулируется антиапоптотическими белками (BcL-2, BcL-x и другими), закрывающими каналы мембран митохондрий для выхода цитохрома С и AIF, а также проапоптотическими молекулами (Bax, Bad и другими). Последние в комплексе с мембранным митохондриальным белком VDAC стимулируют открытие мембранных каналов митохондрий для цитохрома С и AIF.

Для опухолевых клеток характерно подавление обоих путей апоптоза – Fas-инициируемого и митохондриального, что связано с утратой Fas-рецепторов в процессе малигнизации клеток, а также со снижением проницаемости митохондриальных мембран для цитохрома С, AIF и других ферментов (Stambolic V., Mark T. W., Woodgett J. R., 1999).

1.2.2. Онкогенетические и молекулярно-клеточные аспекты развития рака толстой кишки

Как известно, в соответствии с этиологией рака толстой кишки выделяют наследственный семейный рак, развивающийся при семейном аденоматозе, наследственный неполипозный семейный рак, а также спорадический ненаследственный рак, на долю которого приходится около 94–96% заболеваний (Рахимова О.Ю., Александров В.Б., 2008; Burkitt D., 1971; Jamal A. et al., 2003).

Согласно данным литературы, отмечено два варианта возникновения спорадического рака толстой кишки: при непосредственном переходе нормальной клетки в малигнизированную или, как это наблюдается в большинстве случаев, последовательно развивающееся снижение дифференцировки эпителиальной клетки, усиление ее пролиферации, а затем формирование доброкачественных аденоматозных или аденопапилломатозных полипов, ворсинчатых опухолей (Циммерман Я.С., 2012).

К категории облигатного предрака относят полипы размерами более 1 см. При спорадическом (ненаследственном) КРР, в соответствии с клиническими данными, у 18% пациентов возможна наследственная предрасположенность.

Характерной особенностью КРР является генетическая нестабильность (chromosomal instability, CIN), которая выражается во множественных делециях, амплификациях и перестройках больших участков хромосом (Имянитов Е.Н., 2005).

Подобная нестабильность характерна не только для колоректального рака, но и для многих неоплазий, в частности, для рака молочной железы, яичников, желудка, предстательной железы. В то же время необходимо отметить так называемую микросателитную нестабильность, характеризующуюся значительным количеством генных мутаций, поражающих моно-, ди- и тринуклеотидные повторы. Высказывается точка зрения, согласно которой в основе патогенеза рака толстой кишки лежит

избыточное метилирование CpG островков (для пар цитозин – гуанин, расположенных последовательно в одной и той же цепи ДНК). Цитозины, предшествующие гуанину, обнаруживают высокую чувствительность к метилированию, в результате которого возникает активация гена HMLH1. (Haydon A.M., Jass J.R., 2002; Bellacosa A., 2003; Kondo Y., Issa J.P., 2004).

Таким образом, в основе онкогенной трансформации клеток и опухолевой прогрессии при КРР лежат разнообразные точковые или генные мутации, приводящие к экспрессии онкогенов, подавлению супрессирующих и апоптотических генов.

В настоящее время установлены особенности значимых генных мутаций и их фенотипических проявлений при раке толстой кишки, которые представлены далее. Так, с позиции онкогенетики, в основе развития спорадического ненаследственного рака толстой кишки лежат мутации гена APC, обусловливающие развитие начальных предраковых гиперпролиферативных изменений эпителия слизистой толстой кишки. Как известно, ген APC расположен в 5-й хромосоме, а кодируемый им белок разрушает цитоплазматический β-катенин, препятствует образованию транскрипционных комплексов β-катенин Tcf. Экспрессия APC лежит в основе наследственного аденоматозного полипоза и спорадических опухолей толстой кишки (Копнин Б.П., 2000; Рахимов О.Ю., Александров В.Б., 2008).

При семейном аденополипозном раке мутации генов APC проявляется у 80% больных.

Несколько позднее была обнаружена не только инактивирующая мутация в гене APC, но и мутация в гене β-катенина CTNNB1 (Morin P.J. et al., 1999).

В 50% случаев наблюдений рака толстой кишки возникают мутации генов K-ras и N-ras. Ген K-ras расположен в 12-й паре хромосом, а N-ras – в 1-й паре. Кодируемые этими генами белки участвуют в передаче митогенного сигнала и регуляции морфогенеза. Мутации указанных генов при КРР лежат в основе

нарушений дифференцировки и гиперпролиферации трансформированных клеток. Следует отметить, что мутации генов K-ras и N-ras обнаруживаются в 60–80% случаев рака поджелудочной железы, в 20–30% различных солидных опухолей и лейкозов (Копнин Б.П., 2000; Циммерман Я.С., 2012).

При колоректальном раке отмечена мутация гена p53, что приводит к подавлению процессов репликативной регенерации, мутированию ДНК и подавлению процессов апоптоза (Ривкин В.Л., Бронштейн А.С., Фаин С.И., 2001; Парфенов А.И., Осипов Г.А., Ручкина И.Н., 2003; Поддубный Б.К., и др., 2006; Рахимова О.Ю., Александров В.Б., 2008).

В условиях нормы ген p53 ответственен за состояние генома, развитие апоптоза. При инактивации p53 в малигнизированной клетке возникает накопление мутаций, активация онкогенов и торможение антионкогенов, потеря гетерозиготности хромосом (Houlston R.S., 2001; Grady W.M., Markowitz S.D., 2002).

В развитии нарушений дифференцировки клеток и гиперпролиферации при раке толстой кишки, по мнению ряда авторов, определенное место отводится нарушению активности диффузной нейроэндокринной системе желудочно-кишечного тракта, включающей в себя апудоциты, ECL-клетки, EC-клетки, G-клетки, D-клетки и другие. Гормоны диффузной нейроэндокринной системы слизистой кишечника обладают антипролиферативной активностью, а снижение их продукции на терминальных стадиях канцерогенеза создает условия для быстрого роста и метастазирования опухолевых клеток (Кветной И.М., 1987; Kvetnoy I.M., Yuzhakov V.V., 1994).

Так, на метастатических стадиях формирования неоплазий различной локализации отмечена гипоплазия EC-клеток, вырабатывающих мелатонин. Последний, как известно, оказывает ингибирующее действие на рост стероидозависимых клеток, в частности, на развитие рака толстой кишки (Blask D. E., 1993; Reiter R. J. et al., 1994).

Активность других клеток APUD-системы (ECL, продуцирующих гистамин, G-клеток, продуцирующих гастрин), обнаруживает фазные изменения в динамике развития неоплазий различной локализации. Гипоплазия и снижение функций указанных клеток на начальных стадиях опухолевого процесса сменяются гиперфункцией при метастатических формах рака.

1.3. Закономерности развития системных паранеопластических расстройств при неоплазиях различной локализации, их роль в формировании прогрессирующего течения онкопатологии

1.3.1. Роль недостаточности иммунологических механизмов защиты в нарушении элиминации опухолевых клеток и развитии стадий канцерогенеза

Малигнизация клеток различной морфофункциональной организации возникает постоянно на фоне действия физических, химических, биологических канцерогенов, вызывающих экспрессию онкогенов и кодируемых ими ядерных, мембранных и цитоплазматических белков, выполняющих роль антигенов аллергенов.

В процессе взаимодействия опухолевых клеток, несущих генетически чужеродную информацию, и иммунной системы, обеспечивающей элиминацию малигнизированных клеток, выделяют три фазы: иммунологического надзора, равновесия и ускользания (Гранов А.М., Молчанов О.Е., 2008). Каждая из трех фаз имеет определенную особенность и, безусловно, влияет на интенсивность развития опухолевого процесса и его клинические проявления (Malmberg K.J., 2004; Prendergast G.C., 2004; Zou W., 2005).

В условиях нормального состояния иммунных механизмов защиты малигнизированные клетки подвергаются элиминации, что предотвращает процесс метастазирования (Жулай Г. А., Олейник Е. К., 2013; Miyara M. et al., 2009; Sakaguchi S. et al., 2010; Faget J. et al., 2011). Так, по данным исследований ряда авторов, опухоль может достигать 50 мм в диаметре и содержать 10^{10} клеток и сохранять признаки карциномы *in situ* (Моисеенко В.М., 2002).

Фаза иммунологического надзора характеризуется появлением единичных малигнизированных клеток, уничтожаемых NK-клетками, натуральными киллерами с Т-клеточным рецептором (NKT), γ-, δ-, Т-лимфоцитами, макрофагами, гранулоцитами.

В то же время γ-, δ-клетки лимфоидной ткани, имеющиеся в коже, желудочно-кишечном тракте, мочеполовой системе на ранних этапах воздействия онкогенов на организм играют роль презентирующих клеток, а на поздних стадиях опухолевого процесса туморассоциированные макрофаги поддерживают рост опухоли (Condeelis J., Pollard J.W., 2006).

В роли антигенпрезентирующих клеток, как известно, выступают дендритные клетки, эндотелиоциты, В-лимфоциты и сами малигнизированные клетки.

Для реализации индукции иммунного ответа необходимо последовательное взаимодействие на мембране дендритных клеток CD_2 рецептора, MHC-II с презентируемым антигеном, CD_{40}^{+}, ICAM, $CD_{80}^{+}/_{86}^{+}$, CD_{83}^{+} с комплементарными молекулами на поверхности Т-хелперов.

В результате контактного и дистантного взаимодействия происходит активация Т-хелперов I и II типов с последующим включением механизмов гуморального и клеточного иммунитета. Причем клеточная цитотоксичность обеспечивает деструкцию малигнизированных клеток, в то время как гуморальный иммунитет на поздних стадиях опухолевого процесса препятствует разрушению малигнизированных клеток (Dhodapkar K.M. et al.,

2002; Atzpodien J. et al., G. 2004; Dranoff G., 2004; Yu P. et al., 2004; Dranoff G., 2005).

На ранних стадиях активации и промоции опухолевые клетки содержат мало онкоантигенов, поэтому стимуляция иммунологических механизмов защиты весьма ограничена. В настоящее время известно более 100 опухолевых антигенов: 1) вирусспецифические (EBV, HLTV-1, HBV, HCV, HSV; 2) яичниковые MAGE, BaGE, GAGE и другие; 3) неоантигены, появляющиеся в результате соматических мутаций (FLICE, CDK-4, p53); 4) антигены, существующие в нормальных тканях, но экспрессированные в опухоли (HER2neu); 5) тканевые дифференцировочные антигены (Mocellin S. et al., 2004; Graziano D.F., Finn O.J., 2005).

В фазе равновесия с точки зрения концепции канцерогенеза на стадии промоции активируются процессы пролиферации опухолевых клеток, ангиогенеза, формируется локальная опухоль на фоне относительной недостаточности иммунологических механизмов защиты, что требует использования иммуномодулирующей терапии (Prendergast G.C., 2004).

В фазе ускользания опухоли от иммунологического надзора возникают цитокинопосредованная иммуносупрессия, формирование молекулярных дефектов, распознавание презентации антигена, трансдукции сигнала внутрь клетки.

Важная роль в развитии фазы «ускользания» отводится изменению структуры и функции клеток микроокружения неоплазмы. Так, возникает увеличение количества незрелых дендритных клеток и супрессорных Т-регуляторов, а также зрелых дендритных клеток, характеризующихся высоким уровнем продукции IL-12. В то же время клетки микроокружения (фибробласты, тучные, эндотелиальные клетки, элементы микрофиламентной системы) продуцируют такие цитокины, как VEGF, IL-6, TGFB, IL-10, PGE-2 и другие, блокируют дифференцировку и созревание дендритных клеток (Gerundolo V. et al., 2000; Figdor C.G. et al., 2004; Colonna M., Trinchieri G., Liu

Y.J., 2004). При этом подавляется первый этап индукции иммунного ответа против малигнизированных клеток – презентации онкоантигенов в комплексе с белками гистосовместимости Т- и В- системам лимфоцитов.

Патогенетически значимая роль в нарушениях элиминации опухолевых клеток отводится возрастанию уровня в микроокружении регуляторных лимфоцитов (CD_4^+, CD_{25}^+, а также супрессорных клеток с фенотипом CD_8^+, продуцирующих супрессорные цитокины TGFβ, IL-10). Последние вызывают лизис дендритных клеток, снижают их способности к презентации онкоантигенов. Кроме того, дендритные клетки теряют способность экспрессировать MHCI и MHCII и таким образом подавляется феномен «двойного распознавания» онкоантигенов CD_4^+ Т-хелперами.

Подобные изменения структур и функций клеток «микроокружения» отмечены у больных раком молочной железы, легкого, поджелудочной железы, а также колоректальным раком (Liyanage U.K. et al., 2002; Shevach E.M., 2002; Shevach E.M., 2002; Zou W., 2006). В некоторых исследованиях отмечено значение недостаточности иммунологических механизмов защиты в нарушениях элиминации малигнизированных клеток, их метастазирования и, соответственно, в прогрессирующем развитии онкозаболевания (Зяблов Е.В., Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П., 2010).

Роль клеток микроокружения неоплазии находит все большее отражение в ряде данных литературы (Бережная Н.М., 2009; Karuri A.R. et al., 1993; Bukovski A., 2000; Fidler I.J. et al., 2007).

Развитие стадий активации и промоции во многом определяется экстрацеллюлярным матриксом, являющимся резервуаром различных клеточных элементов, а также различных ферментов (липазы, эластазы, коллагеназ, дезоксирибонуклеазы и других), способных модифицировать структуру и функцию интерстициальной ткани, создавать условия для модификации рецепторов различных клеток.

В развитии канцерогенеза большое значение отводится матричным металлопротеиназам (MMPs) – кальцийзависимым, цинксодержащим эндопротеазам. По мнению ряда авторов, этим ферментам принадлежит роль ключевых регуляторов дифференцировки, пролиферации и выживаемости опухолевых клеток (Yoshimura H. et al., 2004; Mantovani A. et al., 2008; Oda S. et al., 2008). Установлена важная функция MMPs в процессе микроваскуляризации опухоли (Le Bras A. et al., 2007), а также в перераспределении рецепторов адгезии, обеспечивающих межклеточное взаимодействие, клеток с экстрацеллюлярным матриксом. Фрагменты экстрацеллюлярного матрикса (коллагена, эластина и др.) регулируют активность нейтрофилов, моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем (Gordan J.D. et al., 2007).

Источниками MMPs являются Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, тучные клетки.

Немаловажная роль в развитии роста опухоли при раке кишечника, молочной, предстательной желез отводится фибробластам, которые инфильтрируют опухоль и способствуют ее развитию (Mantovani A. et al., 2002; Pollard J.W., 2004; Vaupel P., Mayer A., 2007). Биологический эффект фибробластов реализуется в условиях нормы и канцерогенеза за счет продукции многих цитокинов с антионкогенными и протоонкогенными действиями (IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, TNFα), MMPs.

Все эффекты фибробластов в опухолевом микроокружении проявляются или на малигнизированных клетках, или на экстрацеллюлярном матриксе. Взаимодействие фибробластов с опухолевыми клетками сопровождается выделением FSP-1 (fibroblast secreted protein-1), а также CXC-12, SDFα (ростовой фактор фибробластов). Нейтрофилы и тумор-ассоциированные макрофаги служат источниками ростовых факторов для малигнизированных клеток (Liu Y. et al., 2008).

В развитии опухолей с высокой антигенной активностью принимают участие тучные клетки, являющиеся источником щелочной формы фактора роста фибробластов (Guerra M.S. et al., 2006).

Исключительно важная роль в процессах неоваскуляризации растущей опухоли отводится эндотелиальным клеткам и гладкомышечным элементам сосудистой стенки (Redente E.F. et al., 2007; Martinez F.O. et al., 2008). Опухольассоциированные эндотелиальные клетки продуцируют широкий спектр цитокинов с проангиогенным и противовоспалительным действием (Kepka-Lenhart D. et al., 2000).

В последние годы проводится исследование иммунного статуса при раке толстой кишки и установление нарушений иммунологических механизмов защиты в прогрессирующем развитии онкопатологии (Кит О.И. и др., 2012).

На настоящий момент, в соответствии с данными литературы, не систематизированы представления о состоянии гуморального и клеточного иммунитета в динамике опухолевой прогрессии при раке толстой кишки, что требует дальнейшего изучения указанной проблемы. Последнее позволит сформулировать новые диагностические и прогностические критерии развития рака толстой кишки, оценки эффективности комплексной терапии заболевания.

1.3.2. Динамические изменения цитокинового профиля крови при канцерогенезе как объективные критерии системного действия опухоли на организм

Цитокины – гетерогенные по происхождению группы пептидов и низкомолекулярных белков, продуцируемых в условиях нормы и патологии, в частности при неоплазиях различной локализации. Источниками цитокинов при неоплазиях являются опухолевые клетки и клетки их микроокружения: лимфоциты, моноциты, тканевые макрофаги, эндотелии сосудов, фибробласты (Кетлинский С.А., 2008; Симбирцев А.С., 2013; Попков В.М.,

Чеснокова Н.П., 2016; Zarember K., Godowski P., 2002; Akira S., Takeda K., 2004).

В настоящее время выделено около 300 цитокинов, включающих следующие группы: интерфероны, колониестимулирующие факторы, хемокины, интерлейкины, факторы некроза опухоли, ростовые факторы и другие (Кадагидзе З.Г., 2003). Цитокины в условиях нормы выступают в роли регуляторных молекул структуры и функций органов и тканей. Как известно, цитокины обеспечивают согласованное действие иммунной, эндокринной и нервной систем, направленное на поддержание гомеостаза (Симбирцев А.С., 2013; Martinon F., Tschopp J., 2007). Между тем следует отметить, что в условиях патологии онкогенной, воспалительной, инфекционно-аллергической природы цитокины могут проявлять различные биологические эффекты – провоспалительные и противовоспалительные, протоонкогенные и антионкогенные, обеспечивать экспрессию аллергических реакций гуморального или клеточного типа (Кадагидзе З.Г., 2003; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016). Как известно, гены цитокинов сопряженно активируются с онкогенами при хромосомных аберрациях, ретровирусных инфекциях, стимулируя рост малигнизированных клеток.

Для большинства цитокинов характерен не конститувный, а индуцированный синтез, возникающий на фоне активации моноцитарно-макрофагальной, лимфоидной систем, эндотелиоцитов, клеток соединительной ткани. Индукторами синтеза цитокинов являются клетки, несущие генетически чужеродную информацию: антигены-аллергены различной природы, бактерии, токсины, вирусы, медиаторы альтерации, онкобелки и другие воздействия.

Уровень цитокинов в крови, характер нарушения их взаимодействия не отражают специфики патологии, однако возрастание содержания тех или иных цитокинов в крови позволяет судить о продолжающейся или завершившейся стимуляции клеток – продуцентов цитокинов под

воздействием чужеродных антигенов и, соответственно, об эффективности комплексной терапии заболевания, прогнозировании его течения (Симбирцев А.С., 2013; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2014; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016). Таким образом, характерными особенностями действия цитокинов являются отсутствие специфичности биологического действия, индуцибельность синтеза, плейотропность и взаимозаменяемость, развитие рецепторно-опосредованных эффектов (Симбирцев А.С., 2002; 2004).

Действие цитокинов на клетки-мишени опосредуется высокоаффинными трансмембранными рецепторами. В ряде случаев выражено сходство биологических эффектов различных цитокинов, обусловленных идентичностью структур рецепторов мембран, однако при этом степень аффинности рецепторов к цитокинам различных классов бывает различной (Симбирцев А.С., 2002; Кетлинский С.А., 2008; Симбирцев А.С., 2013; Zarember K., Godowski P., 2002; Akira S., Takeda K., 2004; Ting J. et al., 2008).

Наряду с мембранными рецепторами цитокинов имеются растворимые высокоспецифичные для лигандов рецепторы цитокинов, обеспечивающие транспорт цитокинов в зону опухолевого процесса, перифокальной воспалительной реакции, а также в различные органы и ткани. Последние обусловливают развитие синдрома системного воспалительного ответа, свойственного различным формам патологии, в частности онкологическим, инфекционным заболеваниям, а также таким типовым патологическим процессам, как воспаление, лихорадка, аллергия и т.д. (Симбирцев А.С., 2013; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016; Levy M., 2003).

К числу важнейших функций цитокинов относится их участие в процессах дифференцировки клеток, эмбриогенеза, активации систем иммунологической защиты организма (моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем). Особая значимость в обеспечении иммунных

воспалительных реакций отводится интерлейкинам, биологические эффекты которых позволяют разделить их на две группы:

а) цитокины провоспалительного действия,

б) цитокины противовоспалительного действия.

Данные литературы убедительно свидетельствуют о важной роли нарушения баланса цитокинов практически на всех стадиях канцерогенеза (Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2014; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016).

В настоящее время очевидна роль цитокинов в нарушениях межклеточного взаимодействия малигнизированных клеток и приобретении ими способности к инвазии и метастазированию.

Как известно, процессы межклеточной адгезии обеспечиваются при участии Е-кадхерина, связанного через α- и β-катенины с актином цитоскелета клеток. В злокачественных опухолях различной локализации возникает уменьшение или потеря кадхерина, что приводит к диссеминации малигнизированных клеток в связи с нарушением их контактного взаимодействия. Касаясь роли изменений цитокинового статуса в канцерогенезе, следует отметить роль ряда цитокинов в потере Е-кадхерина, включающего эпидермальный фактор роста (EGFR), фактор роста фибробластов (FGFR), инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) (Perl A. et al., 1998; Thiery J.P., 2002).

Обязательным этапом метастазирования клеток является ангиогенез как на стадиях начального роста, так и на стадиях интравазации, прилипания к эндотелиальным клеткам либо к базальной мембране, так и на стадиях роста метастазов (Folkman J., 1990; Folkman J., 2002).

В свою очередь, стимуляция ангиогенеза обеспечивается различными цитокинами, в частности пептидными факторами роста фибробластов, тромбоцитов, плаценты, а также трансформирующими факторами роста α и β, инсулиноподобными факторами роста, а также хемокинами и гормонами. Достаточно четко определены и ингибиторы ангиогенеза, включающие в

частности интерфероны, IL-12, TNF α, а также ряд протеолитических ферментов, гормонов, матриксных металлопротеиназ (Walshe T.E. et al., 2009).

Таким образом, ангиогенез а также васкулогенная мимикрия регулируется ангиогенными факторами, в первую очередь цитокинами семейств VEGF, VEGF-A, VECF-C, VEGFD, гены которых являются мишенями транскрипционной активности белка p53.

При различных новообразованиях, в том числе и при раке ободочной кишки, повышение активности VEGF коррелирует с неблагоприятным прогнозом заболевания (Хромова Н.В., Копнин П.Б., Копнин Б.П., 2011; Duff S.E. et al., 2007; Vidaurreta M. et al., 2010; Tammela T., Alitalo K., 2010).

В условиях нормы p53 сдерживает ангиогенез за счет репрессии генов VECF-A и других индукторов ангиогенеза (bFGF, bFGF-BP) (Sherif Z.A. et al., 2001; Kaklamanis L. et al., 2006). Высказывается точка зрения о том, что потеря функции p53 в процессе канцерогенеза является определяющим фактором процессов неоваскуляризации неоплазии (Hendrix M. Et al., 2003; Teodoro J.G., Evans S.K., Green M.R., 2007; Paulis Y.W. et al., 2010).

Приведенный экскурс в данные исследовательской литературы убедительно свидетельствует об общих закономерностях и особенностях нарушений индуцированного синтеза цитокинов при неоплазиях различной локализации и их роль в механизмах индукции канцерогенеза.

Однако анализ указанных данных позволяет высказать ряд критических замечаний относительно дизайна исследований: определение цитокинового статуса при неоплазиях различной локализации во многих работах проведено вне связи со стадиями распространения опухолевого процесса. В соответствии с этим трудно оценить роль отдельных цитокинов в приобретении малигнизированными клетками адгезивных, инвазивных свойств, способности к метастазированию.

К сожалению, данные литературы о динамических изменениях цитокинового статуса при раке толстой кишки единичны и не

систематизированы, что не позволяет использовать показатели цитокинового профиля крови как критерии оценки системного действия опухоли на организм, эффективности комплексной терапии и прогнозирования течения заболевания.

1.3.3. Активация липопероксидации – типовой процесс дезинтеграции структур и функции клеток при неоплазиях различной локализации, нарушений межклеточного взаимодействия

Перекисное окисление липидов – типовой универсальный патологический процесс, приводящий в конечном итоге к дестабилизации биосистем при самых разнообразных формах патологии: гипоксиях различного генеза, стрессорных ситуациях, эндокринопатиях, заболеваниях инфекционно-аллергической или онкологической природы (Абу Шарах Имад, Чеснокова Н.П., Салов И.А., 2002; С.Н. Гисак, В.И. и др., 2004; Морозова О.Л., Чеснокова Н.П., 2004; Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н., 2006; Мареев О.В., Чеснокова Н.П., Капустина Н.Ю., 2007; Зяблов Е.В., 2009; Свистунов А.А. и др., 2010; Зяблов Е.В., Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П., 2010).

Общепринятым является деление радикалов эндогенного происхождения на первичные и вторичные. К числу первичных относятся супероксиданион радикал (OO^-), нитроксид (NO), убихинон (Q).

Из первичного радикала – супероксида в процессе его метаболических превращений образуются другие активные соединения – H_2O_2, гидроперекиси липидов и другие.

Взаимодействие первичных радикалов, а также других веществ с металлопеременной валентностью (Fe^{2+}) приводит к образованию вторичных радикалов – гидроксил-радикалов (OH) и липидных радикалов, являющихся чрезвычайно реактогенными структурами и вызывающими деградацию

биомембран клеток, нуклеиновых кислот, структурных и ферментных белков (Владимиров Ю.А. и др., 1992; Владимиров Ю.А., 2000; Кольман Я., Рем К.Г., 2000).

Данные литературы относительно состояния свободнорадикального окисления в крови и опухолевой ткани при неоплазиях различной локализации весьма противоречивы.

В ряде работ имеются указания относительно низкой активации процессов свободнорадикального окисления в злокачественных опухолях (Ходосова И.А., 1988; Gamberini M., Leite L.C., 1997, Кондакова И.В. и др., 2005), что связано с высоким уровнем антиоксидантной активности опухолевой ткани (Cheesman K. H., Graham W., 1984; Szatrowski T.P., 1991; Gamberini M., Leite L.C., 1997; Manju V, Kalaivani Sailaja J., Nalini N., 2002).

В других исследованиях установлена чрезмерная системная и локальная в зоне неоплазии активация процессов липопероксидации на фоне подавления механизмов антирадикальной системы клеток (Weinhouse S., 1971; Пескин А.В., 1977; Bellisolaa G., Casarila M., 1987; Cheeseman K.H, Emery S., 1988; Malins D.E., Polissar N.L., Gunselman S.J., 1996; Miura Y. et al., 1997; Grigolo B. et al., 1998; Manju V, Kalaivani Sailaja J, Nalini N., 2002; Topdag S. et al., 2005; Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М., Неродо Г.А., 2009).

До настоящего момента не систематизированы сведения о патогенетической взаимосвязи активации процессов липопероксидации, состояния антирадикальной защиты клеток и опухолевой прогрессии при раке ободочной кишки, а именно ее восходящего отдела. Решение этой проблемы позволило бы значительно расширить существующие диагностические критерии системного действия опухоли на организм на различных стадиях заболевания и возможность оценки эффективности терапии и прогнозирования его течения.

Анализ приведенных результатов исследований отечественных и зарубежных авторов по проблемам этиологии, патогенеза, диагностики

онкопатологии различной локализации, в частности рака ободочной кишки, свидетельствует об отсутствии систематизированных сведений об общих закономерностях и особенностях паранеопластических метаболических и функциональных расстройств, коррелирующих со стадиями распространения неоплазии.

Вышеуказанное и определило цель и задачи данного исследования, результаты которого имеют не только теоретическое, но и практическое значение, позволяют расширить и повысить эффективность традиционных принципов диагностики, прогнозирования и комплексной терапии аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

1.4. Традиционные принципы диагностики онкозаболеваний толстой кишки, перспективы оптимизации диагностических и прогностических критериев развития патологии

1.4.1. Клинические и инструментальные методы диагностики неоплазии толстой кишки

Результаты многолетних клинических наблюдений позволили четко сформулировать факторы риска развития рака толстой кишки, среди которых наследственный рак, возраст старше 50 лет, особенности питания, предшествующая и сопутствующая формы патологии, такие как аденоматоз кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, у женщин – онкопатология молочной железы и репродуктивных органов (Бурцев Д.В., 2012; Гусеинова З.К., 2015).

В связи с изложенным очевидна необходимость тщательного изучения анамнестических данных у пациентов, обследуемых по поводу воспалительных и онкологических заболеваний толстой кишки, а также своевременного выявления фоновых, предраковых и онкологических

заболеваний кишечника и других органов, что значительно повысит эффективность традиционных методов терапии указанных форм патологии.

К настоящему времени достигнуты большие успехи в диагностике рака толстой кишки. Существует мнение о том, что в 90% наблюдений рак толстой кишки можно предупредить на основании знаний о трансформации доброкачественной аденомы в аденокарциному (Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010; Read T.E., Kodner I.J., 1999). При полипах диаметром более 3 см частота их озлокачествления составляет 100%, а при ворсинчатых полипах более 2 см в диаметре – 35–53%. Наиболее часто ворсинчатые опухоли визуализируются в прямой кишке (80%). В связи с этим высказывается точка зрения о том, что наиболее информативным методом скрининга рака толстой и прямой кишки является колоноскопия с последующей полипэктомией, позволяющая выявить до 55% аденом и до 80% карцином толстой кишки *de novo* (Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010; Eddy D.M., 1990). Данные литературы свидетельствуют о том, что аденомы диаметром 5 мм не обнаруживаются в 15–20% случаев. Выявление полипов в процессе колоноскопии и их эктомия обеспечивают снижение заболеваемости и смертности на 90%, между тем плоские образования в толстой кишке не визуализируются (Гусеинова З.К., 2015; Iacopetta B., 2002).

Одиночный полип толстой кишки у взрослых людей развивается бессимптомно, в связи с чем рекомендуется профилактическая фиброколоноскопия каждые 3–5 лет у лиц старше 50 лет. Безусловно, эндоскопическая диагностика требует проведения гистологических исследований, определяющих степень дисплазии.

В последние годы в практику врачей-онкологов и хирургов широкого профиля внедряются инструментальные методы исследования, в частности компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), позволяющие получить двух- и трехмерное изображение толстой кишки

(Александров В.Б., 2006; Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010; Циммерман Я.С., 2012; Levin T.R., 1999; Ransohoff D.F., Sandler R.S., 2002).

Как известно, компьютерная томография определяет и уточняет степень инвазии опухоли, наличие метастазов в лимфоузлах (в 19–67% случаев), в печени (в 90–95%) (Ransohoff D.F., Sandler R.S., 2002).

Компьютерная томография для диагностики рака толстой кишки применяется редко, поскольку обладает низкой специфичностью для выявления ранних стадий онкозаболевания из-за невозможности определить степень инфильтрации стенки толстой кишки. Чувствительность метода в выявлении злокачественной лимфаденопатии при раке ободочной кишки составляет около 45%. Показанием для применения КТ при раке толстой кишки является невозможность выполнения ирриго- и фиброколоноскопии при подозрении на рак, наличие метастазов в печени, легких, необходимость оценки степени распространения опухоли, границ резекции образования, дооперационной лучевой терапии.

Компьютерно-томографическая колоноскопия, или визуальная колоноскопия (ВКС), пришла в практическую медицину около 10 лет назад.

По данным ВКС, колоректальный рак характеризуется утолщением и деформацией стенки толстой кишки, наличием мягкотканных образований в просвете кишки и вне нее. Визуальная колоноскопия позволяет оценить состояние окружающих тканей, их инфильтрацию, наличие местных и отдаленных метастазов (Земляной В.П. и др., 2005). Чувствительность ВКС достаточно велика, однако при использовании этого метода невозможна биопсия ткани, как это делается при фиброколоноскопии. Кроме того, этот метод исследования является дорогостоящим, в связи с чем пока недоступен для многих лечебных учреждений.

Магнитно-резонансная томография, несмотря на высокую чувствительность, является лишь дополнительным методом в диагностике

КРР в связи с высокой стоимостью предоставления услуг, чаще используется для выявления метастазов.

В практической онкологии применяется и ультразвуковое исследование, основанное на принципе регистрации отраженных ультразвуковых волн от границ раздела тканей, отличающихся структурой и плотностью. Разрешающая способность ультразвукового исследования позволяет визуализировать опухолевые узлы размером 0,5–2 см.

Как показывают результаты клинических наблюдений, морфологическое подтверждение диагноза «колоректальный рак» обязательно даже на фоне выраженных клинических проявлений заболевания.

Клинические проявления рака толстой кишки во многом зависят от степени распространения неоплазии и ее дифференцировки, локализации опухоли и сопутствующих осложнений (Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010; Циммерман Я.С., 2012).

Наиболее информативные симптомы: а) патологические выделения с калом (кровь, слизь), в ряде случаев кровотечения; б) расстройство моторно-эвакуаторной функции кишечника в виде диареи, чаще запоров, чувства неполного опорожнения кишечника, тенезмы; в) появление болезненных ощущений в кишечнике; д) неспецифические общесоматические расстройства в виде слабости, недомогания, похудания.

1.4.2. Лабораторные диагностические критерии рака ободочной кишки

Широко применяемым, доступным и информативным методом выявления онкопатологии толстого кишечника является тест на скрытую кровь (гемокультттест) (Мартынюк В.В., 2000; Пророков В.В., Малихов А.Г., Кныш В.И., 2002; Воробьев А.В., 2010; Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010;

Циммерман Я.С., 2012; Гусеинова З.К, 2015; Diez M. et al., 1994; Giardiello F.M., 1995; Faivre J., Tazi M.A., 1999; Eaden J., Abrams K., Mayberry J., 2000; Cotton P.B. et al., 2004).

В клинической практике тесты на скрытую кровь рекомендовано проводить у лиц старше 50 лет, даже не относящихся к группе риска развития КРР. Тест основан на определении пероксидазной активности гемоглобина в фекалиях в процессе реакции с гваяковой смолой, что позволяет обнаружить Hgb. Чувствительность метода составляет 53–82%: (Циммерман Я.С., 2012; Eaden J., Abrams K., Mayberry J., 2000). К числу недостатков гемокультттеста относятся ложноотрицательные результаты при наличии рака до 50%, а при аденомах ободочной кишки – до 70%.

Гемокультттест достаточно часто не информативен при полипах менее 2 см и локализации патологии в восходящем отделе ободочной кишки, в то же время позитивный гемокультттест может быть проявлением неонкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта.

В лабораторной практике используют иммунологический тест на скрытую кровь в кале с утилизированными антителами к глобину человеческого гемоглобина, а также гемопорфириновую пробу. Определение малых количеств скрытой крови в содержимом кишечника проводится с использованием FOBT-теста (Пророков В.В., Малихов А.Г., Кныш В.И., 2002; Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010) и FIT-теста (Пророков В.В., Малихов А.Г., Кныш В.И., 2002; Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В., 2010; Циммерман Я.С., 2012; Yamamoto M., Nakama H., 2000).

Среди лабораторных методов диагностики рака толстой кишки следует отметить определение кальцийсвязывающего протеин-кальпротектина цитоплазмы активированных нейтрофилов, моноцитов, макрофагов. Чувствительность метода и специфичность – менее 30% (Циммерман Я.С., 2012; Hasegawa K., Ueda M., Watanabe M., 1995; Johne D., 2001; Cotton P.B. et al., 2004).

Кальпротектин высвобождается из нейтрофилов и тканевых макрофагов во время их активации при воспалении, онкопатологии кишечника и затем выводится с калом (Бурцев Д.В. и др., 2012). Содержание кальпротектина в кале в 6 раз больше, чем в крови. Нормальное содержание кальпротектина в стуле ≤ 50 мг/г (Бурцев Д.В. и др., 2012). Уровень кальпротектина не отражает специфики патологии, резко возрастает при воспалительных заболеваниях толстого кишечника, бактериальных инфекциях, дивертикулитах, онкологических заболеваниях различной локализации.

1.4.3. Молекулярно-клеточные маркеры экспрессии протоонкогенов как диагностические критерии рака толстой кишки

Для диспансерного наблюдения за больными с повышенным риском развития рака толстой кишки рекомендован мониторинг показателей: раково-эмбрионального антигена (РЭА), карбогидратных антигенов: СА 19-9, СА 242, альфафетопротеинов (АФП).

РЭА – раково-эмбриональный антиген, онкоферментный белок эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта, бронхов, молочной железы. В минимальных количествах обнаруживается в крови, плевральном экссудате, асцитической и спинномозговой жидкостях. Содержание РЭА в условиях нормы 0–5 нг/мл, пограничное значение – 5–8 нг/мл. При колоректальном раке содержание РЭА более 10 нг/мл. Диагностическое значение имеет десятикратное возрастание этого показателя в биологических жидкостях после операций – индикатор рецидива рака.

Карбоантиген СА 19-9 вырабатывается в очень небольших количествах эпителием пищеварительного тракта и бронхов, присутствует в низких концентрациях в крови, асцитической и спинномозговой жидкостях. Содержание СА 19-9 в крови в условиях нормы составляет 0–30 МЕ/мл,

пограничное значение – 30–40 МЕ / мл, патологическое значение – более 40 МЕ/мл. Резкое возрастание уровня СА 19-9 в крови после операции – плохой прогностический признак. Увеличение содержания РЭА и СА 19-9 в крови происходит не только при КРР, но и при колите, болезни Крона и др.

Все более широкое использование в качестве дополнительных диагностических критериев онкопатологии находит определение содержания в крови таких маркерных молекул, как СА-242, АПФ (альфа-фетопротеин) и тумор М2-РК.

Тумор М2-РК (опухолевая М2-пируват-киназа) – дополнительный иммунологический маркер, не обладает органоспецифичностью, отражает степень агрессивности злокачественной опухоли, его уровень достаточно рано и быстро увеличивается в крови при неоплазиях различной локализации, при метастазах и рецидиве опухоли. Пограничное значение 15–20 Ед/мл, патологическое – более 20 Ед/мл (Земляной В.П. и др., 2005).

Альфа-фетопротеин продуцируются желтушным мешком и печенью плода. В условиях нормы содержание в крови взрослых и детей старше двух лет – до 5 МЕ/мл, пограничные значения – 5–10 МЕ/мл. Альфа-фетопротеин может продуцироваться при неоплазиях различной локализации. Содержание АФП при злокачественных новообразованиях составляет более 10 МЕ/мл. Данный тест неспецифический, дополнительный, имеет второстепенное значение.

СА-242 (*сиалогликопротеин*) содержится в карциномах различной локализации. Для диагностики рака желудочно-кишечного тракта, прогнозирования течения заболевания определяется в комплексе с РЭА. Содержание в норме составляет около 6,4 МЕ/мл, но может достигать и до 30 МЕ/мл.

Как известно, одним из патогенетических факторов формирования атипизма опухолевых клеток является нарушение межклеточного взаимодействия в связи с фазными изменениями экспрессии генов,

кодирующих молекулы адгезии Е-кадхерин и β-катенин (Глушанкова Н.А. и др., 2014). Причем в ряде работ отмечено повышение экспрессии Е-кадхерина клетками первичной опухоли, регионарных и отдаленных метастазов. Тем не менее в большинстве прогрессирующих опухолей отмечается снижение продукции Е-кадхерина. Аналогичная закономерность выявлена и для β-катенина, уровень которого резко возрастает в большинстве первичных опухолей, их метастазов в лимфатических узлах (Curto M. et al., 2007).

Редукция экспрессии Е-кадхерина в клетках опухоли и возрастание β-катенина в цитоплазме опухолевых клеток коррелируют со снижением показателей общей и безрецидивной продолжительности жизни.

В лабораторной диагностике онкопатологии используют определение матриксных металлопротеиназ (MMP-2 и MMP-9). Последние обусловливают разрушение внеклеточного матрикса и клеточных базальных мембран, продуцируются малигнизированными клетками и клетками микроокружения неоплазии (Бережная Н.М., 2009). Возрастание уровня MMP-2 и MMP-9 в ткани первичных опухолей, лимфатических узлов, метастазов в печени – маркеры инвазивной способности малигнизированных клеток, низкого уровня их дифференцирвки, возрастания глубины опухолевой инвазии в кишечную стенку при раке толстой кишки (Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е., 2008).

Определенное диагностическое значение в онкопатологии имеет исследование компонентов базальных мембран, в частности содержащих коллаген IV или фрагменты контуров мембраны. Исчезновение коллагена IV позитивно-окрашенных мембран является прогностически-неблагоприятным иммуногистохимическим показателем рака толстой кишки. В последние годы онкогенетические аспекты патогенеза неоплазии находят все большую реализацию в диагностике и прогнозировании течения онкологических заболеваний толстой кишки. Так, гиперэкспрессия белка nm 23 и аккумуляция белка p53 в ядрах опухолевых клеток при раке толстой кишки также

расцениваются как прогностически неблагоприятные признаки развития КРР (Диллекторская В.В., Кушлинский Н.Е., 2008).

В соответствии с рядом исследований маркерами опухолевого роста могут быть циркулирующие в кровотоке нуклеиновые кислоты, происходящие из раковых клеток (Кондратова В.Н. и др., 2013; Sidransky D., 2002). Присутствие в крови здоровых лиц и онкологических больных ДНК и РНК связано, с одной стороны, с некрозом и апоптозом клеток, а с другой – с возможностью их клеточной секреции (Кондратова В.Н. и др., 2013; Stroun M. et al., 2000; Gahan P.B., Swaminathan R., 2008). В связи с недостаточностью неоангиогенеза, развитием гипоксии в растущих опухолевых клетках появляются зоны некроза, возникают фрагментация клеточного содержимого и проникновение нуклеиновых кислот в кровоток (Кондратова В.Н. и др., 2013; Lichtenstein A.V. et al., 2001; Schwarzenbach H. et al., 2007; Schwarzenbach H. et al., 2009). Для опухолевых клеток характерен некроз, образующиеся при этом ДНК гетерогенны по размерам (Jahr S. et al., 2001; Choi J.J., Reich C.F. III, Pisetsky D.S., 2005). Обнаружение специфически измененных нуклеиновых кислот в биологических жидкостях может являться одним из диагностических критериев опухолевого роста.

Анализируя в целом приведенные данные относительно диагностических и прогностических критериев развития неоплазии различной локализации, в частности рака толстой кишки, следует выделить доминирующее значение в диагностике стадийности опухолевого роста общепринятую в России и за рубежом TNM-классификацию.

Несмотря на широкое использование TNM-классификации и ее большую практическую значимость, необходимо отметить целесообразность дальнейшего расширения классификационных признаков стадийности распространения опухолевого процесса при раке толстой кишки, на основе установления закономерностей системного действия опухоли на организм в динамике онкопатологии.

Очевидно, что динамика опухолевой прогрессии определяется не только размерами опухоли, наличием регионарных и отдаленных метастазов, но и характером системного действия опухоли на организм, которое, безусловно, далеко не всегда отражается при использовании консервативных методов морфологического и гистохимического анализов.

На каждой из стадий канцерогенеза: онкогенной трансформации клеток, промоции, опухолевой прогрессии – возникают определенные закономерности системного действия опухоли на организм. Последние проявляются в виде динамических изменений состояния гормонального баланса, иммунного, цитокинового, метаболического статусов. В зависимости от преобладания адаптивных и дезадаптивных реакций находятся либо возможность перехода стадии малигнизации клеток в стадию промоции и опухолевой прогрессии, либо малигнизированные клетки элиминируются из организма, а опухолевый процесс так и не развивается.

До настоящего момента не систематизированы сведения относительно закономерностей паранеопластических расстройств на различных стадиях опухолевого процесса при неоплазиях ободочной кишки, в частности ее восходящего отдела. В связи с этим показатели паранеопластических расстройств: метаболического, иммунного, цитокинового статусов, гормонального баланса – не используются в оценке характера системного действия опухоли на организм в динамике распространения неоплазии. Между тем мониторинг указанных показателей значительно объективизирует оценку общесоматического статуса пациентов, эффективность комплексной терапии и в целом прогнозирование течения заболевания.

Данная работа посвящена установлению значения системных паранеопластических расстройств в патогенезе рака ободочной кишки, в частности ее восходящего отдела, выявлению информативных критериев прогрессирующего или регрессирующего течения заболевания, оценки эффективности терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДУЕМОГО КОНТИНГЕНТА ПАЦИЕНТОВ

Проведено комплексное обследование 188 пациентов с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки (91 женщины и 97 мужчин) в возрасте от 48 до 75 лет, находившихся на стационарном лечении в клинике хирургии и онкологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России (на базе ОАО «РЖД» НУЗ «Дорожная клиническая больница» на ст. Саратов-II) за период с 2012 по 2017 гг.

Критериями включения пациентов в исследования являлись данные колоноскопии с результатами цитологического и гистологического исследованиями, диагностирующими наличие аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Комплексное обследование пациентов с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки включало следующие методы диагностики:

- сбор анамнеза, выявление наследственной предрасположенности по онкопатологии толстой кишки и других локализаций;
- пальпацию передней брюшной стенки, пальцевое ректальное исследование
- ирригоскопию, колоноскопию
- рентгенографию легких, УЗИ органов брюшной полости, при необходимости МРТ и КТ органов брюшной полости и малого таза.

Все пациенты с верифицированным диагнозом проходили комплексное обследование общесоматического статуса, в частности исследовались функциональные возможности сердца (ЭКГ, УЗИ сердца, осмотр терапевта).

Наличие отдаленных метастазов определяли с помощью инструментальных методов исследования, включающих рентгенографию легких, УЗИ органов брюшной полости, при необходимости МРТ и КТ. Для

лиц женского пола обязательным являлось ультразвуковое исследование органов малого таза с последующей консультацией гинеколога.

Все результаты клинико-инструментальных исследований представлялись на онкоконсилиум, где по результатам комплексного обследования определялась тактика и выбор метода лечения.

Стадирование патологии и распределение по группам наблюдения происходило после оперативного лечения – правосторонней гемиколэктомии в соответствии с результатами планового гистологического исследования в соответствии с современной TNM – классификацией. В группы наблюдений пациентов с онкопатологией восходящего отдела ободочной кишки включались больные с аденокарциномой высокой и средней степенью дифференцировки. Количество удаленных в препарате лимфоузлов состовляло от 2 до 8.

Клиническая классификация TNM (Л.Х. Собина и др., 2011)

T — Первичная опухоль
Tx — Первичная опухоль не может быть оценена
To — Отсутствие данных о первичной опухоли
Tis — Карцинома in situ. Внутрислизистая или инвазия в собственную пластинку слизистой оболочки
T1 — Опухоль прорастает в подслизистую основу
T2 - Опухоль прорастает в мышечную оболочку
T3 опухоль прорастает в подсерозную основу или в не покрытые брюшиной ткани вокруг толстой либо прямой кишки
T4 — опухоль прорастает в другие органы или структуры и / или в висцеральную брюшину.
T4a — опухоль прорастает в висцеральную брюшину
T4b — Опухоль прорастает в другие органы или структуры

N – Регионарные лимфатические узлы

Nx — Региональные лимоузлы не могут быть оценены
No — Нет метастазов в региональных лимфатических узлах
N1 — Метастазы в 1-3 региональных лимфатических узлах
N1a- Метастаз в 1 региональном лимфоузле
N1b- Метастазы в 2-3 региональных лимфоузлах

N1c — опухолевые депозиты в подсерозной основе или в не покрытых брюшиной мягких тканях вокруг толстой кишки и прямой кишки без метастазов в региональных лимфоузлах
N2 – Метастазы в 4 и более региональных лимфоузлах
N2a — Метастазы в 4-6 региональных лимфоузлах
N2b — Метастазы в 7 и более региональных лимфоузлах

M- Отдалённые метастазы

Mo – Нет отдалённых метастазов
M1 — Есть отдалённые метастазы
M1a — Метастазы в одном органе: печень, лёгкие, яичники, нерегиональный лимфатический узел (узлы).
M1b — Метастазы более чем в одном органе или брюшине.

В I группу наблюдения были включены 62 пациента с локальными (T1–2N0M0) стадиями аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Наличие опухоли восходящего отдела ободочной кишки в этой группе наблюдения было находкой эндоскопистов в процессе комплексного обследования. Клинически локальные стадии аденокарциномы восходящей ободочной кишки в большинстве случаев проявлялись неспецифическими симптомами, в частности, общей слабостью, снижением работоспособности и аппетита, а в ряде случаев умеренной болезненностью в правых отделах живота.

Во II группу наблюдения были включены 64 пациента с местно-распространёнными T3–4(а,в)N1-2M0) стадиями указанной онкопатологии. Трудность диагностики аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки заключается в том, что длительное время указанная онкопатология может клинически не манифестировать. В ряде случаев нарушения моторно-эвакуаторной функции толстой кишки обусловливают болевой синдром в правых отделах живота, гипертермию, чувство дискомфорта и тяжести в брюшной полости, а также развитие тошноты и рвоты. Нередко клинические проявления патологии напоминают аппендицит, колит, интоксикацию и анемию неясного генеза.

У 62 пациентов была диагносцирована аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки с отдаленными метастазами, в связи с этим в указанной группе наблюдения проведены лишь традиционные методы клинико-лабораторного обследования, в то время как исследование метаболического, иммунного, цитокинового статусов, коагуляционного потенциала крови, гормонального баланса крови у данного контингента пациентов не проводилось, так как это не соответствовало цели и задачам диссертационной работы.

В группу сравнения входило 62 человека, находившихся на стационарном обследовании, без клинически выраженных проявлений какой-либо патологии.

В исследования не входили пациенты с сопутствующими или предшествующими онкозаболеваниями, эндокринопатиями, иммунодефицитными состояниями, а также декомпенсированными формами висцеральной патологии.

Для решения поставленных в работе цели и задач проведено комплексное клинико-лабораторное обследование пациентов с указанной онкопатологией на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания. Исследования включали:

1. Анализ клеточного состава периферической крови
2. Исследование метаболического статуса по показателям содержания в крови глюкозы, мочевины, общего билирубина, белковых фракций, электролитов (Na, Ca, K) с использованием традиционных методов
3. Оценку иммунологического и цитокинового статусов
4. Анализ гормонального баланса крови (содержание АКТГ, кортизола и СТГ)
5. Исследование показателей эндотелиальной дисфункции и коагуляяционного потенциала крови

Принимая во внимание факт высокой реактогенности крови на действия патогенных факторов было проведено исследование клеточного состава и биохимических свойств крови пациентов на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Клеточный состав периферической крови исследовали по содержанию эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, моноцитов, эозинофилов, лимфоцитов, а также уровня гемоглобина и СОЭ. Биохимический спектр крови оценивали по показателям содержания в крови общего билирубина, мочевины, протеинов (альбуминов и глобулинов), глюкозы, электролитов (ионов калия (K^+), натрия (Na^+), и кальция (Ca^+), используя традиционные методы исследований.

В соответствии с данными литературы о важной роли свободнорадикальной дестабилизации биомембран клеток в развитии их атипизма, межклеточного взаимодействия и метастазирования проведены исследования содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации - малонового диальдегида (МДА) и диеновых коньюгатов (ДК) на локальных и местно-распространенных стадиях неоплазии. Показателем оценки стабильности клеточных мембран при злокачественном процессе в ободочной кишке явилась перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ).

О состоянии антиоксидантной системы крови судили по активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, а также содержанию витамина Е в сыворотке крови.

Одной из задач данной работы явилось выяснение характера паранеопластических расстройств, сопутствующих процессам активации малигнизированных клеток на локальных стадиях и процессов метастазирования на местнораспространенных стадиях онкозаболевания. В связи с вышеизложенным, последующие исследования касались

установлению закономерности изменений Т- и В- зависимых иммунных реакций, обеспечивающих элиминацию клеток, несущих генетически чужеродную информацию, в частности малигнизированных клеток.

О состоянии гуморального звена иммунитета судили по уровню содержания в крови иммуноглобулинов G, A, M (IgG, IgA, IgM), а также

CD_{19}^{+}-В-лимфоцитов.

Состоянии клеточного звена иммунитета изучено по содержанию в периферической крови CD_3^{+}-Т-лимфоцитов, а также их субпопуляций - CD_4^{+}-, CD_8^{+}-Т-лифмоцитов и их соотношение (CD_4^{+}/CD_8^{+}).

О состоянии антителозависимой цитотоксичности к малигнизируемым клеткам судили по уровню CD_{16}^{+}-NK-лимфоцитов.

Как известно, важная роль в обеспечении реакций адаптации на действие патогенных факторов различной природы отводится гормонам и цитокинам, обеспечивающим мобилизацию иммунитета, нервной, эндокринной систем.

Изменения уровня цитокинов при онкозаболеваниях, как и при других видах патолгии, не носит специфический характер, однако отражает в значительной мере интенсивность стимуляции клеток микроокружения неоплазии онкоантигенами и соответственно уровень индуцибельного синтеза про- и противовоспалительных цитокинов с прото- или антионкогенными эффектами.

С целью изучения функциональной активности клеток моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем исследовано содержание в крови ряда цитокинов – интерлейкина-1 (IL-1), интерлейкина (IL-6), фактора некроза опухоли-α (TNF-α), а также гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF).

Важнейшими гормонами адаптации и дезадаптации в условиях онкогенной ситуации являются АКТГ и глюкокортикоиды, обеспечивающие с

одной стороны формирование механизмов неспецифической резистентности организма, а с тругой – лизис и апоптоз лимфоидной ткани.

Для оценки гормонального баланса определяли содержание в крови пациентов уровня соматотропного гормона (СТГ), адренокортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола, используя традиционные иммуноферментные методы анализа.

Для оценки нарушений эндотелиальной дисфункции и коагуляционного потенциала крови у больных с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки определяли уровень адгезивных молекул SICAM (молекулы клеточной адгезии) в крови, а также Р-селектины и Е-селектины.

О состоянии коагуляционного потенциала крови судили по показателям коагулограммы - международного нормализованного отношения (МНО), протромбинового индекса, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ-тест), тромбинового времени и уровня фибриногена.

Взятие крови проводилось из кубитальной вены, после верификации диагноза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки до проведения какой-либо терапии с учетом личного добровольного информируемого согласия и соответствовало этическим принципам, установленным Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2000).

Все показатели метаболического, иммунного, цитокинового статусов, гормонального баланса, коагуляционного потенциала крови изучены до проведения какой-либо терапии, подвергнуты статистической обработке с использованием параметрического метода.

Краткое описание используемых в работе методов определения указанных выше показателей крови представлено ниже.

Определение клеточного состава крови (Лейкоциты эритроциты, моноциты, лимфоциты, эозинофилы, уровень гемоглобина, СОЭ)

Подсчет клеточного состава крови производился на аппарате «SYSMEX-K1000».

Анализатор «SYSMEX-K1000» производит частичный подсчет лейкоцитарной формулы, окончательный подсчет клеточных элементов производился при помощи световой микроскопии.

Метод определения уровня мочевины в сыворотке крови

Уровень мочевины крови определялся с использованием кинетического метода с помощью набора реагентов фирмы ЗАО «Диакон-ДС». Принцип метода основан на взаимодействии аммиака с α-кетоглутаратом в присутствии глутаматдегидрогеназы, в результате реакции происходит окисление НАДН. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна концентрации мочевины и измеряется фотометрически.

Определение уровня общего билирубина в крови

Общий билирубин крови определяется фотометрическим методом с помощью набора реагентов фирмы ЗАО «Диакон-ДС».

Определение содержания общего белка в сыворотке крови

Белки образуют с ионами меди в щелочной среде комплекс, интесивность окраски которого зависит от концентрации общего белка в крови и измеряется фотометрически при длине волны 52-560 нм.

Метод определения уровня С-реактивного белка в сыворотке крови

Уровень С-реактивного белка (СРБ) определяли с помощью СРБ латекс-теста с использованием набора реагентов для определения С-реактивного белка в реакции агглютинации латекса производства ЗАО «ЭКОлаб».

СРБ латекс-реагент представляет собой суспензию латексных частиц, на поверхности которых иммобилизованы антитела против СРБ человека. При смешивании данного реагента с сывороткой крови человека, содержащей СРБ в концентрации, превышающей 6,0 мг/л, в результате реакции между антителами к СРБ и антигеном (СРБ) развивается агглютинация латексных частиц.

Для полуколичественного определения СРБ анализируются последовательные разведения исследуемого образца. Об уровне СРБ судят по последнему разведению (титру), при котором была выявлена визуально определяемая агглютинация.

Определение содержания в крови ионов кальция, калия и натрия

Ионы кальция в щелочной среде взаимодействуют с о-крезолфталеиновым комплексоном с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого зависит от концентрации кальция в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 550-590 нм. Уровень в сыворотке крови ионов калия и натрия производилось на аппарате «Иономер ЭЦ-59» фирмы «КвертиМед».

Методы исследования состояния перекисного окисления липидов в и состояния антиоксидантной системы крови, а также уровня молекул средних масс

Метод определения малонового диальдегида в крови по С.Н. Суплонову, Э.Н. Барковой (Суплонов С.Н., 1985)

Основан на способности малонового диальдегида давать окрашенный комплекс в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой.

Эритроциты, отмытые 0,15 М NaCl, предварительно гемолизировали 2 мл дистиллированной воды. Интенсивность окраски измеряли на фотоэлектроколориметре (КФК-2).

Спектрофотометрический метод определения активности каталазы в эритроцитах по S. Conen, D. Dembuc, S. Markec

(Conen S., 1970)

Перекись водорода вступая в реакцию с солями молибдена образует стойкий окрашенный комплекс. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре (СФ-26) при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которую вместо перекиси водорода вносят 2 мл воды.

Активность каталазы рассчитывали по разности контроль-опыт, умноженной на коэффициент 8,98, и выражали в мкЕ/л .

Метод определения акивности супероксиддисмутазы в крови по R. Fried (Fried R., 1975)

Активность СОД определяли по снижению скорости восстановления нитросинего тетразолия в присутствии НАД-Н и феназинметасульфата. Гемоглобин, который мешал определению ферментативной активности, осаждали смесью хлороформа и этанола в соотношении 3:5.

Метод определения перекисной резистентности эритроцитов по методу G. Cogan, P. Gyorgy, C.F. Rose, в модификации А.А. Покровского, А. А. Абрарова (Покровский, А.А., 1964)

Определяли процент эритроцитов, гемолизирующихся в обычных условиях под действием определенных концентраций H_2O_2 в физиологическом растворе. Перекисная резистентность эритроцитов обратнопропорциональна к степени гемолиза, определяемых в стандартных условиях опыта. Активность выражали в условных единицах на 1 мл эритроцитов.

Метод определения гидроперекисей липидов в крови

Сущность метода в том, что диеновые структуры поглощают конъюгированные гидроперекиси липидов. Гидроперекиси липидов предварительно экстрагировали из субстрата смесью гептан-изопропанол 1:1. Величину экстинкции определяли на спектрофотометре.

Метод определения содержания витамина Е в сыворотке крови по Н.И. Габриэляну, Э.Г. Левицкому, О.И. Щербановой (Габриэлян, Н.И., 1983)

Разницу плотностей «холостой» пробы и опытной, содержащей витамин Е, определяли на спектрофотометре при длине волны 292нм. Активность выражали в единицах оптической плотности/мг липидов.

Исследование уровня молекул средних масс в сыворотке крови по А.Н. Ковалевскому, О.Е. Нифантьеву (Ковалевский А.Н., 1999)

Сущность метода сводится к выявлению разницы плотностей «холостой» пробы и опытной, содержащей молекулы средних масс в ультрафиолетовых лучах на спектрофотометре. Результат измерений выражали в единицах оптической плотности.

Лабораторные методы оценки иммунного и цитокинового статусов

Применяли следующие методы исследования:

- определение субпопуляционного состава лимфоцитов (CD_3^+-, CD_4^+-, CD_8^+-, CD_{19}^+-клетки) периферической крови проводилось методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител производства «Медбиоспектр» (Москва);

- определение иммуноглобулинов классов G, A, M (IgG, IgA, IgM) методом радиальной иммунодиффузии.

Исследование уровня цитокинов в сыворотке крови проводили на иммуноферментном анализаторе «СтатФакс» (Москва). Концентрацию цитокинов (IL-1, IL-6), фактор некроза опухоли (TNF-α), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GCSF) определяли в сыворотке крови с помощью иммуноферментных тест-систем, основанных на «сэндвич» - варианте твердофазного иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Санкт-Петербург) в соответствии с инструкцией фирмы производителя.

Метод определения гормонального баланса крови

Иммуноферментный анализ – вид иммунохимического анализа, основанного на связывании антигена с соответствующим антителом с образованием комплекса антиген-антитело, определяемого с помощью ферментной метки (конъюгата). Результат определяют по цветной химиеской реакции, катализатором которой является фермент, с использованием хромогена (субстрат). Под действием фермента бесцветный растворхромогена превращается в цветное вещество – хромофор, или же хромоген окисляется продуктом реакции, которую катализирует фермент. Интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

Твердофазный ИФА – вариант теста, когда один из компонентов иммунной реакции (антиген и/или антитело) сорбирован на твердом носителе, например, в лунках планшета.

Количественное определение в сыворотке крови СТГ, АКТГ и кортизола проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов фирмы «Вектор БЕСТ».

Методы оценки гемостаза и эндотелиальной дисфункции

У наблюдаемого контингента больных на различных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки исследовали показатели коагулограммы (МНО, протромбиновый индекс, АЧТВ-тест, тромбиновое время, фибриноген) с использованием фотометрического метода с помощью автоматического коагулометра «AUTOCLOT». Содержание в крови Р-селектинов, Е-селектинов, молекул клеточной адгезии (SICAM) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе МД-6000.

Морфологический метод исследования

Проводилась колоноскопия с экспресс-цитологическим и гистологическим исследованием опухоли, интраоперационное цитологическое и гистологическое исследования (экстренное и плановое).

Цитологический метод в диагностике больных с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки был применен с целью установления диагноза в процессе клинического обследования и уточнения его в ходе операции. Окраску мазка осуществляли при помощи фиксирующего раствора метанола (24 ммоль/л) 200 мл; окрашивающего раствора 1 – эозина У (1,73 ммоль/л фосфатный буфер, РН 6,8, 60 ммоль/л)200 мл; окрашивающего раствора 2 – Азура II(12 г/л фосфатный буфер, pH 6,8, 60 ммоль/л) 200 мл. Все три окрашивающих раствора входят в набор «Лейкодиф 200» (Номер 10003196BioLaTEST). Хранить от +2 °Сдо +25 °С.

Гистологический метод исследования

Фиксация препаратов осуществлялась в 10%-ном растворе нейтрального формалина с последующей спиртовой проводкой и изготовлением парафиновых блоков. Окраска гематоксилин-эозином. Препараты описывались под увеличением 80 и 320.

Стадирование диагноза производилось по результатам планового патоморфологического исследования в соответствии с последней TNM – классификацией, согласно которой стадия аденокарциномы ободочной кишки зависит от степени инвазии неоплазии.

Методы статистической обработки

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с помощью программ Statistica (Версия 6.0, «Statsoft, Inc», г.Москва); «Microsoft Excel, (Microsoft, 2013). Определялись критерий достоверности Стьюдента, достоверность различий, расчет средней арифметической. Достоверными считали различия при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

ГЛАВА 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ СИСТЕМНЫХ ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И ГОРМОНАЛЬНОГО БАЛАНСА ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА ОБОДОЧНОЙ КИШКИ.

3.1. Характер изменений белкового спектра крови, электролитного баланса, уровня глюкозы, мочевины, билирубина в крови в динамике распространения опухолевого процесса.

Формирование неоплазий различной локализации является многофакторным процессом, обусловленным не только воздействием канцерогенов экзогенной или эндогенной природы, но и состоянием реактивности и резистентности организма к действию патогенов на клеточном, органном, системном уровнях. В связи с этим очевидно, что возникновение злокачественных новообразований закономерно сочетается с развитием комплекса неспецифических метаболических расстройств, обусловленных, с одной стороны предсуществующими нарушениями гормонального баланса, нервной регуляции, иммунного статуса, - а с другой – системным действием опухоли на организм.

Активное развитие опухоли требует от организма пластических и энергетических ресурсов, между тем, время особенности изоферментного спектра малигнизированных клеток, экспрессия ферментов на цитоплазматической мембране обеспечивают их высокую конкурентоспособность.

Для многих форм онкопатологии свойственны гипогликемия, гиповитаминоз, поскольку малигнизированные клетки являются «ловушкой» многих субстратов (Попков В.М., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., 2014)

И наконец, в соответствии с данными литературы воздействие стрессорных раздражителей, в том числе и канцерогенов, гипоксического

фактора неизменно приводят к развитию свободно-радикальной дестабилизации структур клеток различной морфофункциональной организации и биосистем в целом.

До настоящего момента не проводилось многофакторного анализа характера системных метаболических расстройств на начальных стадиях аденокарциномы ободочной кишки, в том числе и её восходящего отдела, в связи с этим не установлены диагностическая и прогностическая значимость этих паранеопластических расстройств. Вышеуказанное определило задачи данного фрагмента исследования.

Как показали результаты исследования, одним из высокочувствительных метаболических показателей системного действия аденокарциномы ободочной кишки на организм у пациентов с локальными стадиями являлось развитие гипогликемии (табл. 1, рис. 1). Как известно, гипогликемия является одним из типовых проявлений метаболического атипизма опухолевых клеток, связанного с экспрессией на цитоплазматической мембране малигнизированных клеток аномальных изоферментов, связывающих глюкозу, а также с активацией внутриклеточных гликолитических реакций.

У пациентов этой же группы оставалось в пределах нормы содержание мочевины в крови, что свидетельствовало о сохранности процессов периаминирования аминокислот в орнитиновом цикле гепатоцитов (табл. 1, рис. 1). Содержание общего билирубина в крови на ранней стадии заболевания также не отличалось от такого показателя группы контроля, что являлось косвенным признаком отсутствия нарушения образования неконъюгированного билирубина в клетках моноцитарно-макрофагальной системы костного мозга и ряда других тканей с последующей элиминацией его из кровотока гепатоцитами с образованием конъюгрованного пигмента.

Таблица 1

Показатели биохимического спектра крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях развития неоплазии

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии (T1–2N0M0)		Местно-распространенные стадии T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
Глюкоза крови (ммоль/л)	4,9±0,21	4,3±0,19	P<0,05	3,4±0,15	P<0,001 P1<0,001
Мочевина (ммоль/л)	6,4±0,29	6,6±0,30	P>0,05	6,5±0,31	P>0,05 P1>0,05
Общий билирубин (мкмоль/л)	13,2±0,64	12,8±0,62	P>0,05	12,6±0,58	P>0,05 P1>0,05

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

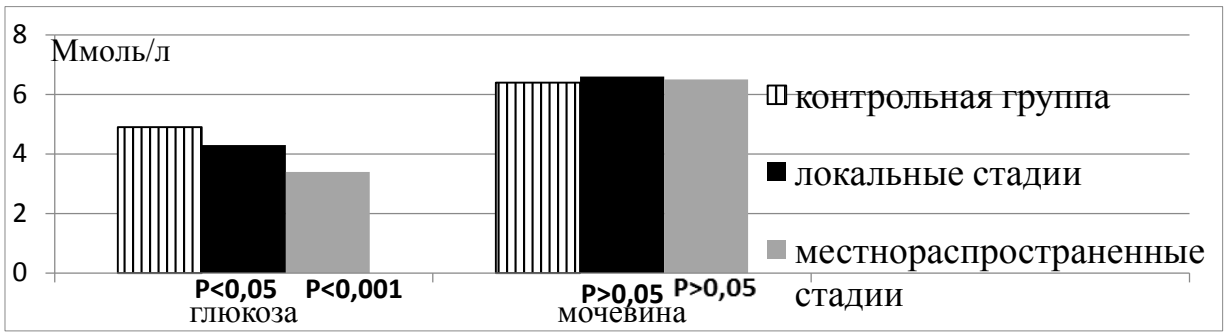


Рис. 1. Уровень глюкозы и мочевины крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Что касается изменений белкового спектра крови на начальных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, то наиболее ранним проявлением системного действия опухоли на метаболический статус организма является возрастание уровня в крови острофазного С-реактивного белка, в то время как общее содержание белка, соотношение альбуминов и глобулинов в крови оставались в пределах нормы (табл. 2, рис 2).

Таблица 2

Белковый спектр крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях развития неоплазии

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
Протеины (г/л)	79,4±3,91	77,9±3,82	P>0,05	77,9±3,79	P>0,05 P1>0,05
Альбумины (г/л)	45,5±2,27	42,3±2,09	P>0,05	38,7±1,84	P<0,05 P1>0,05
Глобулины (г/л)	33,9±1,67	35,6±1,74	P>0,05	39,1±1,91	P<0,05 P1>0,05
С-реактивный белок (мг/л)	3,7±0,16	4,3±0,11	P<0,05	17,2±0,62	P<0,001 P1<0,001

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологии

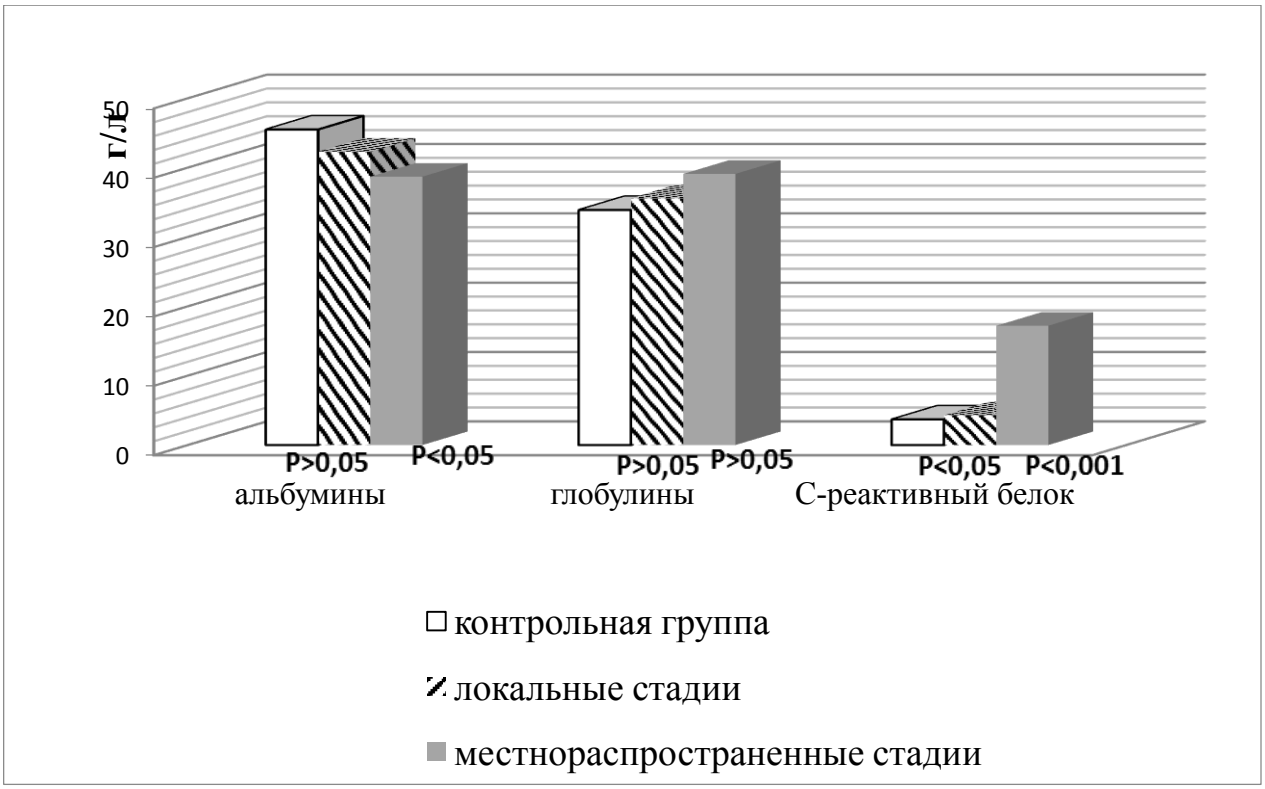


Рис. 2. Показатели белкового спектра крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишк

Целью последующих наблюдений явилось определение содержания в крови электролитов – натрия, калия и кальция в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Выполнение этого фрагмента исследования было обусловлено тем, что при изучаемой патологии возникали нарушения функции кишечника в виде запоров или диареи, кровопотери с кишечным содержимым и даже симптомы кишечной непроходимости, что, безусловно, не может не отразиться на состоянии водно-электролитного баланса организма.

Как оказалось, на ранних стадиях аденокарциномы ободочной кишки не возникало сколько-нибудь выраженных изменений электролитного баланса крови: содержние K, Na, Ca, оставалось в пределах нормы (табл. 3, рис. 3-4).

Таблица 3

Электролиты крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях развития неоплазии

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
Кальций (Ca^+) (ммоль/л)	2,43±0,118	2,38±0,111	P>0,05	2,36±0,105	P>0,05 P1>0,05
Натрий (Na^+) (ммоль/л)	141,3±7,04	138,9±6,81	P>0,05	120,7±5,91	P<0,05 P1<0,05
Калий (K^+) (ммоль/л)	4,2±0,19	3,7±0,14	P>0,05	3,2±0,11	P<0,001 P1<0,01

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

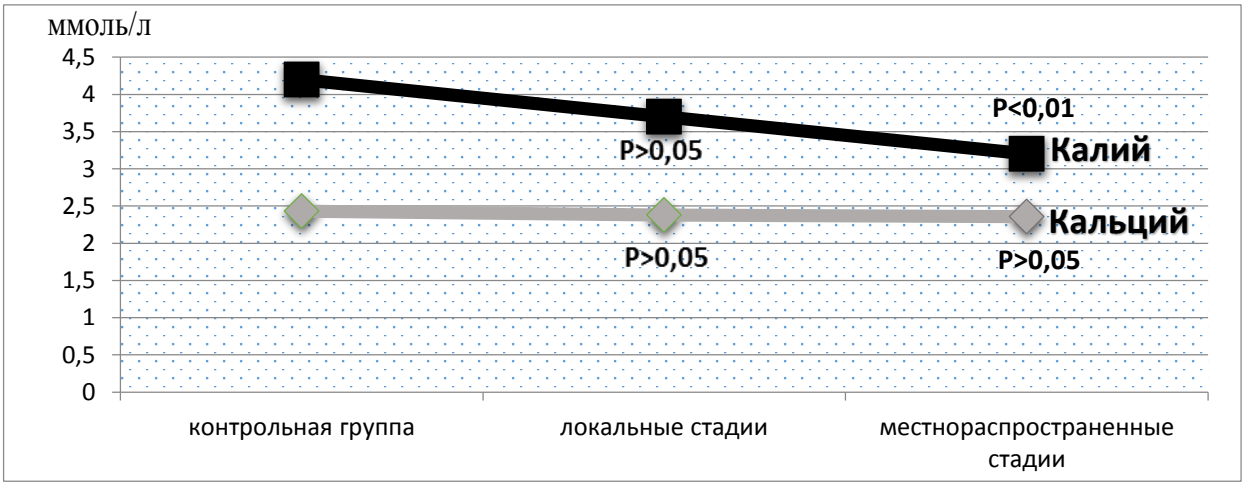


Рис.3. Уровень кальция и калия в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Рис. 4. Уровень натрия крови на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Резюмируя вышеизложенное, следует заключить:

Метаболическими показателями системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм на ранних стадиях развития неоплазии (T1–2N0M0) являются лишь гипогликемия и повышенный уровень в крови острофазного С-реактивного белка, при отсутствии изменений электролитного баланса, содержания в крови альбуминов и глобулинов, мочевины и креатинина.

Как известно, повышенное содержание в крови С-реактивного белка является одним из типичных признаков развития цитокинопосредованного синдрома системного воспалительного ответа. В то же время, на ранних стадиях опухолевого процесса не нарушаются синтез альбуминовых фракций крови, мочевины, билирубина, что свидетельствует об отсутствии нарушений гомеостатической функции печени в регуляции пигментного обмена, синтеза альбуминов, мочевины в орнитиновом цикле.

Закономерными проявлениями системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм на местно-распространенных

стадиях опухолевого процесса (T3–4(а,в)N1-2M0) являются прогрессирующие гипогликемия и повышение содержания в крови С-реактивного белка, а также диспротеинемия и нарушения электролитного баланса в виде гипокалиемии, гипонатриемии. Полученные нами данные впервые позволяют рекомендовать использовать их в качестве дополнительных диагностических и прогностических критериев развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

3.2. Активация процессов липопероксидации и недостаточность антиоксидантной системы крови – как патогенетические факторы дестабилизации мембран клеток и опухолевой прогрессии при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки.

Как известно, активация липопероксидации является типовым процессом свободнорадикальной деградации биоембран клеток различной морфофункциональной организации, приводящей к нарушениям структуры и функции клеток, межклеточных взаимодействий и метастазированию в случаях онкопатологии.

В соответствии с поставленной целью проведена сравнительная оценка содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации: диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МД), молекул средних масс (МСМ) в двух группах онкологических больных.

Состояние антиоксидантной системы крови оценивали по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и содержанию витамина Е в крови с использованием общепринятых колориметрических и спектрофотометрических методов исследования.

Проведенные нами исследования показали, что активация процессов липопероксидации возникает уже на начальных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (T1–2N0M0). Об этом

свидетельствует возрастание содержания в крови ДК и МДА. Одновременно с возрастанием промежуточных продуктов липопероксидации увеличилось и содержание в крови молекул средних масс (табл.4, рис. 5,6,7). Известно, что указанный показатель (МСМ) отражает интенсивность накопления в крови низкомолекулярных белков, пептидов, продуктов распада липидных компонентов мембран и соответственно является интегративным показателем катаболических реакций и аутоинтоксикации организма.

Таблица 4

Показатели состояния активности процессов липопероксидации и аутоинтоксикации при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях развития неоплазии

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
ПРЭ (% гемолиз.эр.)	1,45±0,032	2,37±0,02	P <0,001	2,81±0,04	P <0,001 P1<0,001
МДА в крови (нмоль/мл)	3,1±0,04	3,94±0,133	P <0,001	4,99±0,131	P <0,001 P1<0,001
ДК в крови (ед/мл)	1,48±0,031	2,16±0,039	P <0,001	3,04±0,09	P <0,001 P1<0,001
МСМ (ед.опт.пл.)	0,21±0,007	0,37±0,011	P <0,001	0,48±0,013	P <0,001 P1<0,001

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

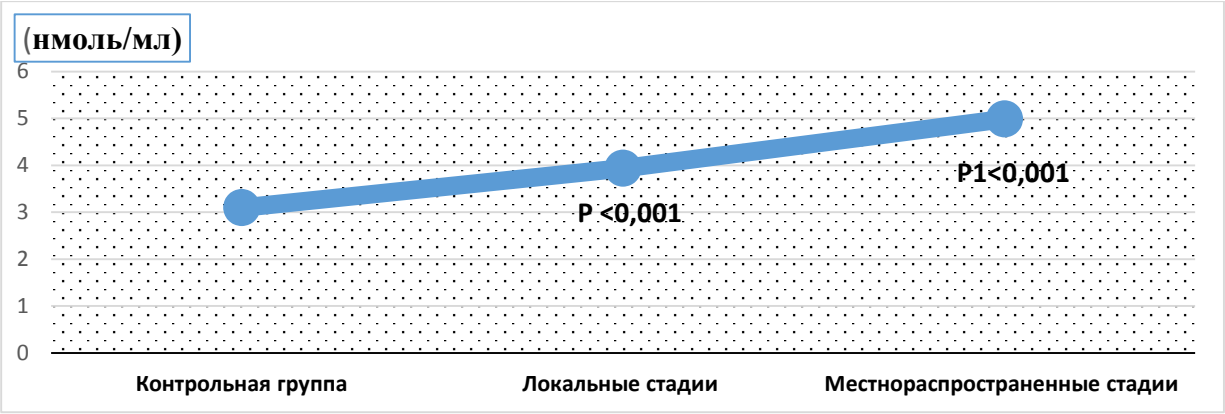


Рис.5. Показатель содержания в крови малонового диальдегида на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

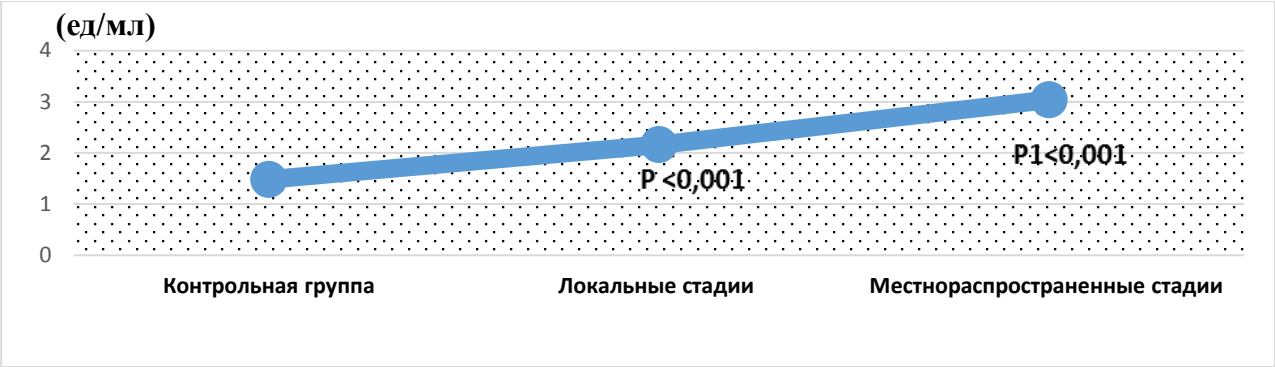


Рис.6. Содержания в крови диеновых коньюгатов на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

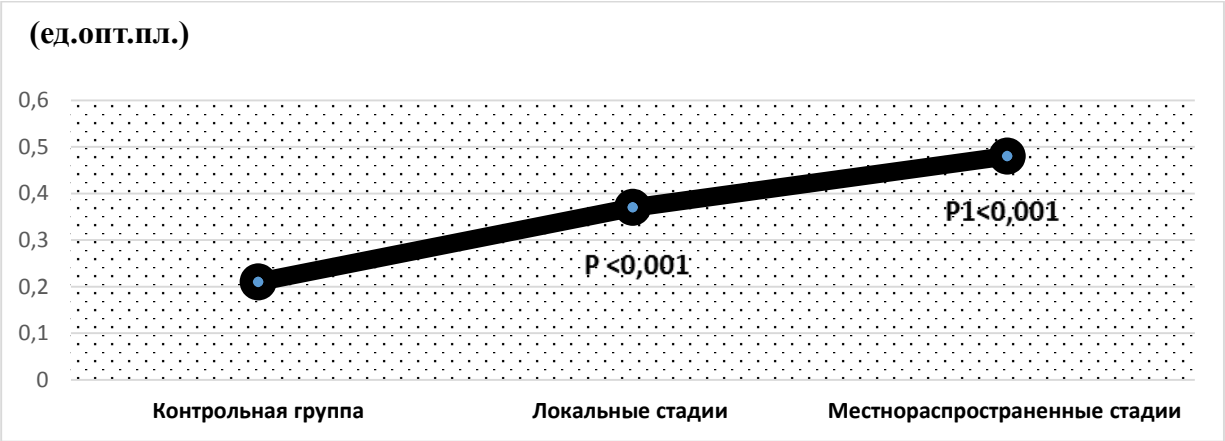


Рис.7. Содержание в крови молекул средних масс на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Дальнейшие исследования позволили установить, что в основе активации процессов липопероксидации лежит недостаточность ферментного звена антиоксидантной системы крови, что нашло отражение в снижении активности СОД в крови (рис.8). Одновременно снижалось и содержание в крови витамина Е – так называемой «ловушки» свободных радикалов (рис.9).

Недостаточность антиоксидантной системы крови на фоне активации процессов липопероксидации проявлялась по мере распространения опухолевого процесса в виде дальнейшего возрастания содержания МД и ДК в крови (табл.4), усугублялась недостаточность ферментного звена антиоксидантной системы крови, характеризующаяся прогрессирующим снижением активности СОД и уровня витамина Е. Активность каталазы практически не изменялась (табл.5), тем не менее имело место снижение перекисной резистентности эритроцитов в динамике распространения аденокарциномы ободочной кишки, на что указывало возрастание процента гемолизированных эритроцитов (табл. 4).

Касаясь биологической значимости выявленных нами закономерностей развития системных метаболических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, следует остановиться на анализе данных литературы. Установлено, что свободнорадикальное окисление, в частности, процессы липопероксидации являются неспецифическим эфферентным звеном развития ряда типовых патологических процессов и заболеваний различного генеза, в частности, онкологической, инфекционно-аллергической, воспалительной природы и определяют в значительной мере тяжесть течения патологии (Попков В.М., Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю., 2012).

Таблица 5

Показатели состояния активности антирадикальной защиты клеток при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях заболевания

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
СОД в цельной крови (Ед/мл)	418,3±20,57	359,4±17,48	P <0,05	311,2±15,27	P <0,001 P1<0,001
Витамин Е в сыворотке крови (Ед. опт. плот.)	22,4±1,09	18,7±0,71	P <0,05	15,2±0,46	P <0,001 P1<0,01
Каталаза эритроцитов (мк Е /1л эр.)	5,12±0,149	5,37±0,164	P>0,05	5,39±0,167	P>0,05 P1>0,05

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

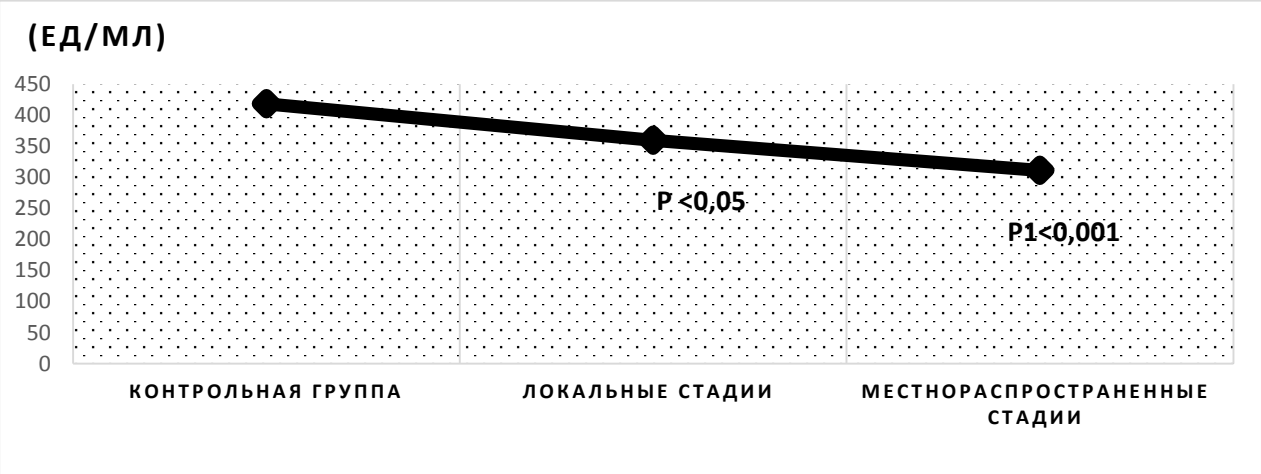


Рис.8. Активность супероксиддисмутазы в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

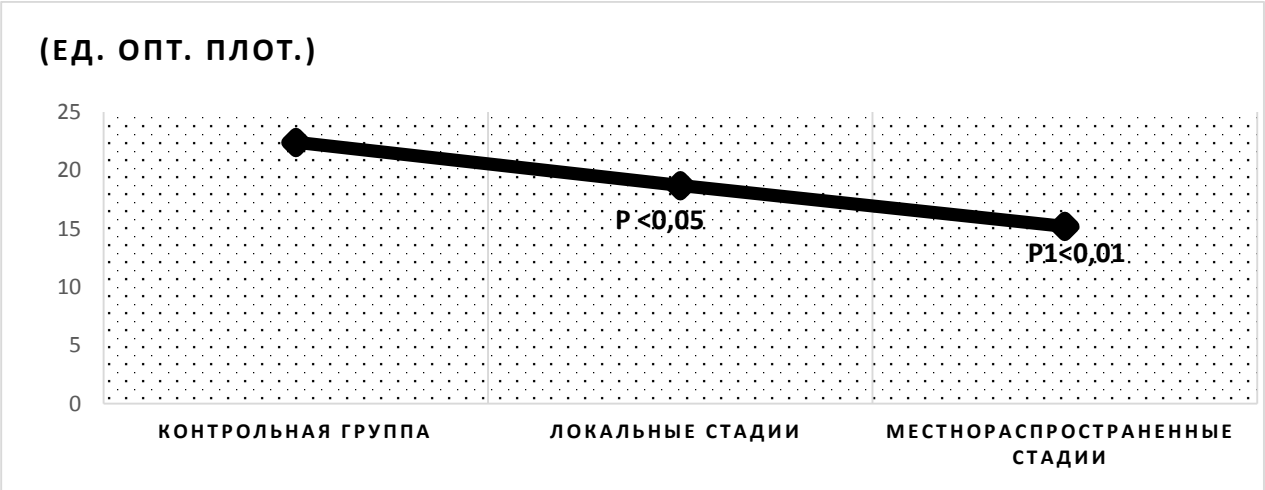


Рис.9. Содержание витамина Е в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

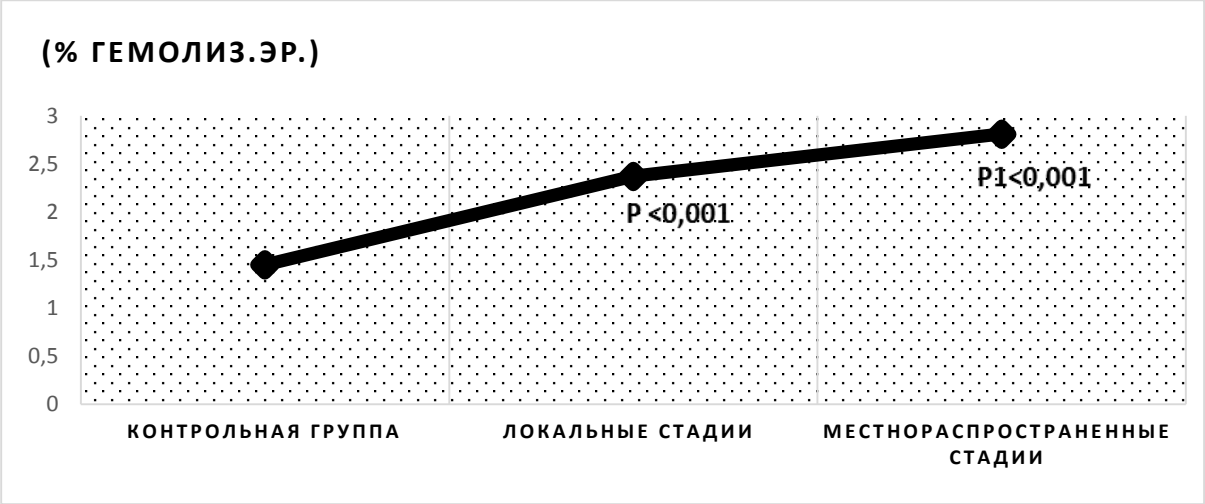


Рис.10. Уровень гемолизированных эритроцитов на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Выявленный нами факт увеличения содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации является косвенным свидетельством избыточного образования активных форм кислорода, в частности, супероксид- аниона, убихинона и других, в процессе превращения которых возникают активные молекулярные соединения: перекись водорода, гидроксильные радикалы и

другие. Указанные активные формы кислорода вступают во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (линолевой, линоленовой, арахидоновой) – важнейшими компонентами фосфолипидов биологических мембран клеток, вызывая их деградацию.

Таким образом, полученные нами данные относительно возрастания содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации, снижения перекисной резистентности эритроцитов, убедительно свидетельствуют о том, что одним из патогенетических факторов опухолевой прогрессии в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки является глубокая системная дезорганизация структуры и функций биологических мембран клеток различной морфофункциональной организации.

Одним из патогенетических факторов интенсификации процессов липопероксидации при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки является абсолютная или относительная недостаточность механизмов антиоксидантной защиты клеток.

Резюмируя вышеизложенное следует заключить:

Системная активация процессов липопероксидации является одной из закономерностей паранеопластических расстройств, зависящая от степени и стадии распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Об этом свидетельствовало прогрессирующее возрастание содержания в крови МДА и ДК, достигающее максимума в период развития местнораспространенных стадий заболевания (T3–4(a,в)N1-2M0).

Патогенетическими факторами системной активации процессов липопероксидации при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки являются прогрессирующая недостаточность активности супероксиддисмутазы крови и падение содержания витамина Е в крови.

3.3. Показатели изменения уровня гормонов адаптации и роста на локальных и местнораспространенных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Обнаруженные нами изменения метаболического статуса в процессе распространения неоплазии в виде диспротеинемии, усиления синтеза острофазных белков, гипогликемии, активации процессов липопероксидации безусловно носят неспецифический характер и могут быть обусловлены развитием гормонального дисбаланса.

Развитие онкогенно-опасной ситуации в процессе малигнизации трансформированных клеток и их активации, усиление продукции малигнизированными клетками онкобелков, цитокинов и гормоноподобных веществ являются стрессорными факторами, вызывающими мобилизацию гормонов адаптации (АКТГ, глюкокортикоидов, катехоламинов).

Целью данного фрагмента исследований явилось определение характера нарушений гормонального баланса, а также установление патогенетической взаимосвязи изменения содержания в крови гормонов адаптации (АКТГ, кортизола) и ростстимулирующего гормона СТГ в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Результаты проведенных исследований позволили установить новые закономерности системных паранеопластических расстройств при аденокарциноме ободочной кишки, в виде развития гормонального дисбаланса.

Так, на локальных стадиях заболевания возникала активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, о чем свидетельствовало усиление продукции АКТГ и кортизола и соответственно увеличение их содержания в крови. На местно-распространенных стадиях уровень кортизола в крови резко возрастал по отношению к таковым показателям группы контроля и группы наблюдения с локальными стадиями онкопатологии. При этом уровень АКТГ в крови снижался по сравнению с показателями группы пациентов с локальными

стадиями заболевания, превышая, однако, нормальные показатели (Табл. 6, рис.11).

Таблица 6

Показатели содержания в крови СТГ, АКТГ и кортизола у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки

Группы сравнения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P/P1
СТГ (0,5-7,0 нг/мл)	5,3±0,28	6,2±0,.24	P>0,05	10,2±1, 1	P<0,001 P1<0,001
Кортизол (150-660 нмоль/л)	323,5±29,3	402,8±25,2	P<0,001	680,4±28,4	P<0,001 P1<0,001
АКТГ (8,3—57,8 пг/мл.)	37,7±2,6	60,7±2,2	P<0,001	42,6±2,8	P<0,001 P1=0,001

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

Факт снижения уровня АКТГ на фоне возрастающего содержания кортизола в крови свидетельствует о сохранении принципа «обратной связи» между центрогенным стимулирующим воздействием АКТГ и уровнем кортизола. В то же время следует отметить, что малигнизированные клетки способны продуцировать АКТГ-подобные субстанции и вызывать соответствующие изменения гормонального баланса.

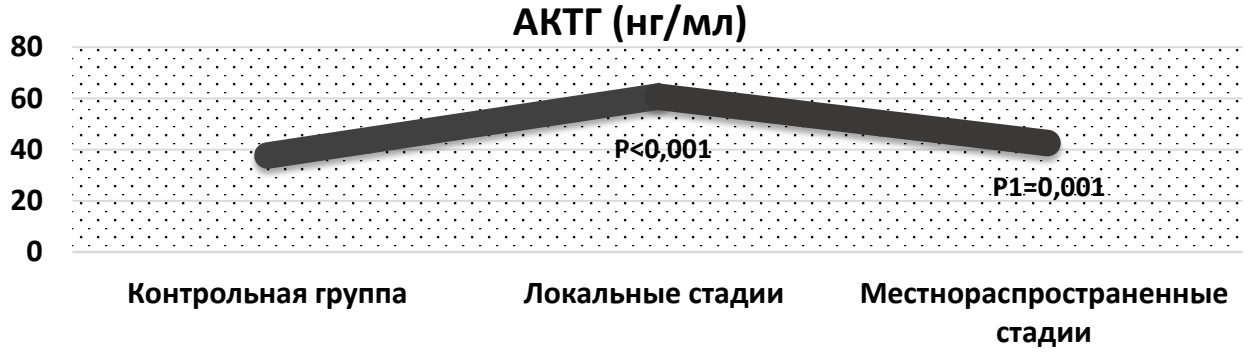


Рис.11. Содержание АКТГ в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

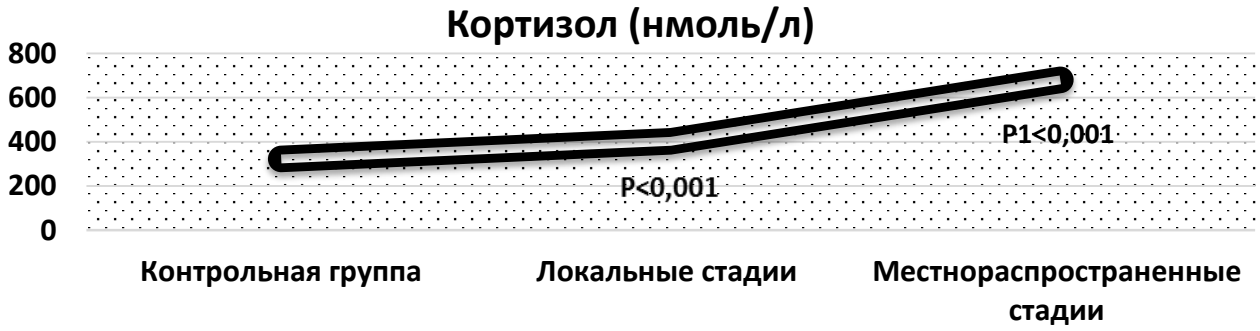


Рис.12. Содержание кортизола в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

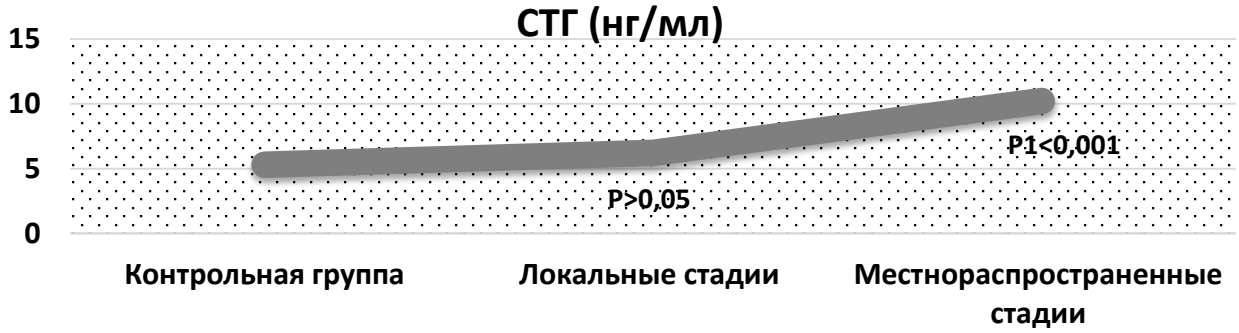


Рис.13. Содержание СТГ в крови на локальных и местно-распространенных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Касаясь роли изучаемых гормонов в регуляции клеточного состава крови, следует отметить, что глюкокортикоиды вызывают лизис и апоптоз лимфоидной

ткани, что приводит к развитию лимфопении, а также стимулируют совместно с цитокинами миелопоэз (Глыбочко П.В., Свистунов А.А., Чеснокова Н.П., и др. 2009; Попков В.М., Чеснокова Н.П., Захарова Н.Б., и др. 2016).

В последние годы важная роль в развитии «безудержной» пролиферации малигнизированных клеток различной морфофункциональной организации отводится инсулиноподобным факторам роста – тканевым посредникам реализации ростовых эффектов соматотропного гормона. В связи с этим не случайны проведенные нами исследования по установлению содержанич СТГ в крови у пациентов в динамике распространения неоплазии.

Как оказалось, на локальных стадиях заболевания, уровень СТГ в крови оставался в пределах нормы, но значительно возрастал при местно-распространенных стадиях онкопатологии (Табл. 6, рис.13).

Полученные результаты позволяют заключить:

Развитие аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки закономерно сочетается с прогрессирующим увеличением содержания в крови глюкокортикоидов, обладающих выраженным катаболическим действием, влиянием на клеточный состав крови, а также способных одновременно инициировать развитие реакций адаптации и повреждения. Между тем глюкокортикоиды вызывают развитие системных полимодальных эффектов на структуру и функцию лимфоидной ткани, пролиферативную активность эпителиальных клеток желудочно-кишкчного тракта и ряд других органов и систем. В соответствии с полученными данными, возрастание уровня СТГ на местно-распространенных стадиях изучаемой онкопатологии является не только одним из диагностических критериев активации опухолевого роста, но и прогностически-неблагоприятным фактором метастазирования малигнизированных клеток.

ГЛАВА 4. РЕАКТОГЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ, ИММУННОГО И ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСОВ В ДИНАМИКЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ – КАК ПРОЯВЛЕНИЯ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ ОПУХОЛИ НА ОРГАНИЗМ.

4.1. Показатели клеточного состава периферической крови в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Периферическая кровь является чрезвычайно реактогенной системой, характеризующейся изменениями биохимического спектра, клеточного состава, интегративных показателей активности иммунной системы, цитокинового профиля в ответ на действие патогенов инфекционной, аллергической, онкогенной природы.

Касаясь характера изменений клеточного состава периферической крови в условиях онкопатологии, следует отметить, с одной стороны, неспецифичность этих сдвигов, а с другой стороны – гетерогенность инициирующих факторов и соответственно значимые изменения нервной, гормональной и цитокинопосредственной регуляции гемопоэза при неоплазиях различных локализаций.

Одной из характерных особенностей паранеопластических расстройств при злокачественных новообразованиях является формирование гиперкортицизма, вызывающего развитие лизиса и апоптоза лимфоидной ткани, усиление эмиграции эозинофилов из системного кровотока, активацию гранулоцитопоэза в костном мозге, что, естественно, отразится на характере лейкоцитарной формулы.

В то же время, клетки микроокружения опухоли: моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем, а также тучные клетки, фибробласты, эндотелиоциты и, наконец, сами малигнизированные клетки, продуцирующие

значительное количество про- и противовоспалительные цитокины с выраженными анти- и протоонкогенными свойствами (Попков В.М., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., 2014; Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016).

Особый интерес представляет субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, уровень иммуноглобулинов, прдуцируемых В-системой лимфоцитов и цитокиновый профиль крови (Бережная, Н.М., 2009).

Индукция иммунного ответа при неоплазиях обеспечивается неоантигенами опухолей на фоне экспрессии многочисленных мутаций и экспрессии онкогенов. В свою очередь стимуляция лимфоцитарно-моноцитарной и макрофагальной систем различных клеток микроокружения приводит к индукции синтеза цитокинов, изменение содержания которых в периферической крови, как и многих других показателей крови, носит неспецифический характер.

В то же время динамика и характер изменений цитокинового профиля крови при неоплазиях свидетельствует о большем или меньшем содержании онкоантигенов, степени антигенной стимуляции иммунной системы, сопровождающейся усилением индуцированного синтеза цитокинов. Вышеуказанные показатели позволяют оценить эффективность комплексной терапии заболевания и прогноз его развития.

До настоящего момента не проводились исследования по установлению патогенетической взаимосвязи между стадиями распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки и показателями крови, отражающими системное действие опухоли на организм. В связи с этим в диагностике указанной патологии для оценки системного действия опухоли на организм не использовались многие показатели паранеопластических расстройств. Последнее определяет целесообразность данного фрагмента исследования.

Решение проблем о характере системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм неслучайно начато с

определения клеточного состава периферической крови. Это обусловлено тем фактом, что именно с анализа показателей лейкоцитарной формулы, содержания эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов, уровня СОЭ начинается лабораторное обследование пациентов с различными формами патологии и в том числе с злокачественными новообразованиями. В то же время динамические изменения показателей клеточного состава периферической крови отражают степень участия в развитии реакций аутоинтоксикации в условиях патологии неспецифических механизмов резистентности и специфических иммунологических механизмов защиты, поскольку являются показателями центрогенных нервных влияний, интенсификации освобождения гормонов адаптации (АКТГ, глюкокортикоидов, катехоламинов), а также проявлением механизмов тканевой ауторегуляции за счет продукции колониестимулирующих факторов, интерлейкинов, эритропоэтина и других цитокинов клетками различной морфофункциональной организации.

Анализ проведенных исследований клеточного состава периферической крови у пациентов с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки выявил определенные проявления системного действия опухоли на организм уже на локальных стадиях заболевания (T1–2N0M0). Как оказалось, общее содержание лейкоцитов, тромбоцитов крови на указанной стадии не изменялось. В то же время имело место некоторое снижение уровня эритроцитов, гемоглобина и ускорение СОЭ (Табл. 7, рис. 15).

Развитие анемии у данного контингента пациентов связано с микро- и макрокровопотерями с кишечным содержимым, о чем свидетельствует использование так называемого гемокультеста – как одного из важных диагностических критериев в дифференциальной диагностике онкопатологии толстой кишки.

Обнаруженное нами ускорение СОЭ – это не только результат анемии, но и неспецифический симптом синдрома системного действия опухоли на организм, обусловленный продукцией клетками микроокружения неоплазии и

самими малигнизированными клетками цитокинов системного действия, влияющих на белковосинтетическую функцию печени. При этом, как известно, возникают гиперпродукция грубодисперсных белков, диспротеинемия, влияющая на уровень суммарного отрицательного дзетта-потенциала эритроцитов и соответственно вызывающая ускорение СОЭ.

Уровень тромбоцитов остается в пределах нормы на начальных стадиях заболевания, что свидетельствует об определенных трудностях использования этого показателя для оценки системного действия опухоли на организм на локальных стадиях заболевания (T1–2N0M0). Последнее связано с широким диапазоном изменчивости этого показателя в условиях относительной нормы (от 180 – до 380 x10^9 /л).

Представляет определенную практическую значимость и выявленное нами изменение со стороны лейкоцитарной формулы крови в период формирования начальных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Так, при отсутствии изменения общего содержания лейкоцитов периферической крови имели место относительная и абсолютная лимфопения, моноцитопения. Уровень эозинофилов оставался в пределах нормы.

Таким образом, обнаруженный нами факт развития лимфо- и моноцитопении безусловно носит неспецифический характер. Между тем, возникновение лимфо- и моноцитопении отражает существенные нарушения гемопоэза, возникающего уже на начальных стадиях развития неоплазии, и связанного, повидимому, с одной стороны с избыточной продукцией ростингибирующих факторов (в отношении миелопоэза – это IL-10, 13, TNFα, PG E, E_2, а в отношении лимфопоэза – это глюкокортикоиды).

Таблица 7

Содержание лейкоцитов и состояние лейкоцитарной формулы клеточного состава периферической крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M+m	M+m	P	M+m	P
Общее число лейкоцитов ($*10^9$/л)	6,3±0,17	6,8±0,19	P>0,05	14,6±0,61	P<0,001 P1<0,001
Абсолютное число лимфоцитов ($*10^9$/л)	2,2±0,09	1,3±0,05	P<0,001	0,8±0,02	P<0,001 P1<0,001
Содержание палочкоядерных лейкоцитов (%)	2,3±0,06	2,7±0,08	P<0,05	10,2±0,39	P<0,001 P1<0,001
Содержание сегментоядерных лейкоцитов (%)	51,7±2,48	53,5±2,5	P>0,05	56,1±2,7	P>0,05 P1>0,05
Содержание моноцитов (%)	5,6±0,17	2,3±0,09	P<0,001	1,7±0,06	P<0,001 P1<0,001
Содержание эозинофилов (%)	3,1±0,08	3,2±0,09	P>0,05	5,4±0,11	P<0,001 P1<0,001
Содержание лимфоцитов (%)	30,1±1,31	21,7±1.02	P<0,001	18,9±0,81	P<0,001 P1<0,05

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

В то же время, снижение содержания в крови лимфоцитов и моноцитов на ранних стадиях формирования аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки имеет определенную патогенетическую значимость, поскольку является косвенным свидетельством того факта, что онкогенная трансформация клеток – еще не есть опухолевый процесс. Важная роль в механизмах развития изученной онкопатологии должна быть отведена недостаточности элиминации

малигнизированных клеток, о чем свидетельствуют моноцитопения и лимфопения, обеспечивающая соответственно развитие макрофагальной реакции, а также формирование клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

Таким образом, манифестирующими признаками системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на локальных стадиях (T1–2N0M0) заболевания являются лимфопения, моноцитопения, анемия. Указанные показатели необходимо учитывать уже при комплексном обследовании больных с возможной онкопатологией.

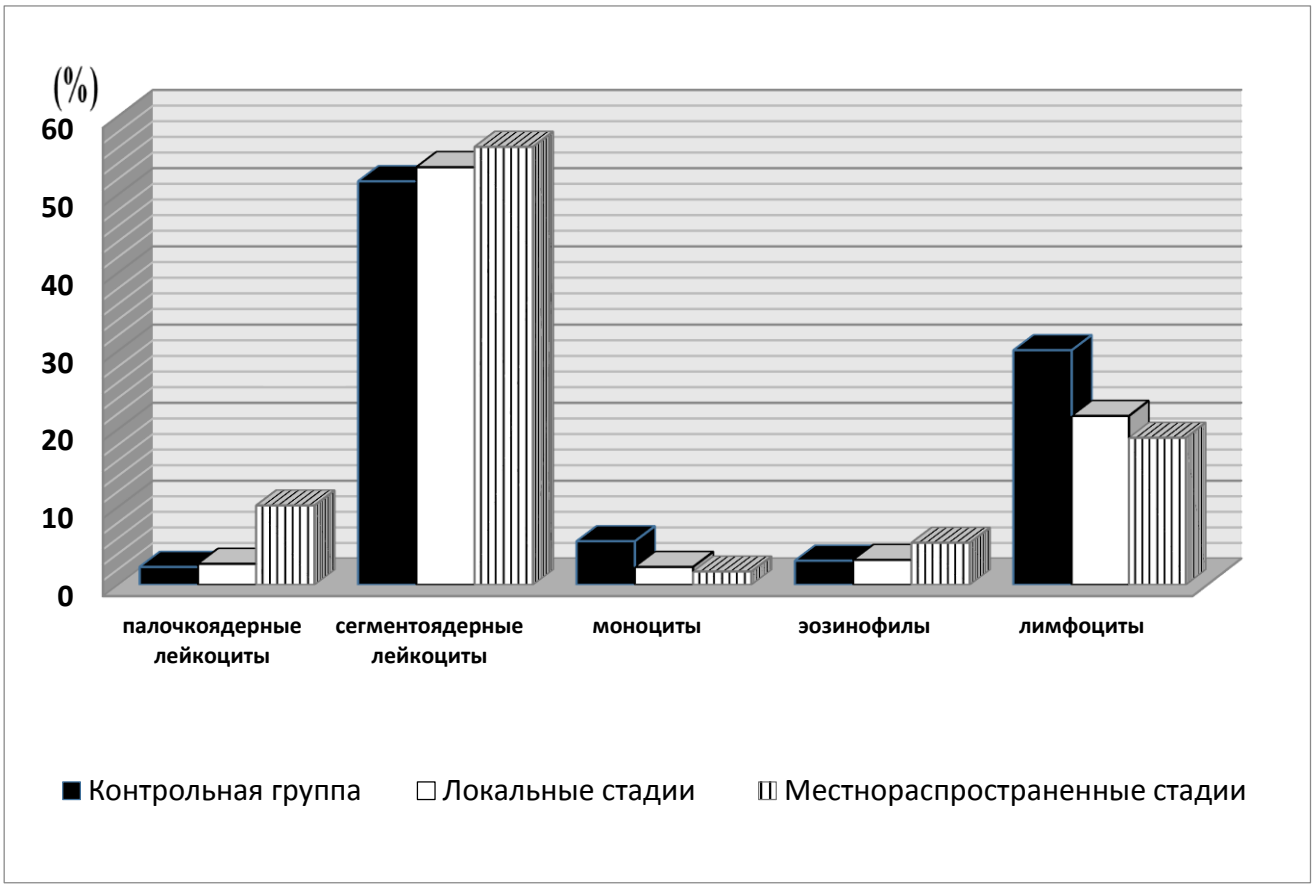


Рис.14. Показатели клеточного состава периферической крови в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Последующие исследования показателей периферической крови проведены в группе пациентов уже с местнораспространенными стадиями (T3–4(а,в)N1-2M0) рака восходящего отдела ободочной кишки, позволившие

выявить определенную динамику реактогенных изменений крови. Так, на указанных стадиях патологии отмечалось развитие лейкоцитоза с более выраженным сдвигом лейкоцитарной формулы влево за счет возрастания уровня палочкоядерных лейкоцитов по сравнению с показателями предшествующей группы наблюдения. Одновременно отмечалась прогрессирующая лимфопения, а также эозинофилия. Наличие эозинофилии, или эозинофильно-базофильной ассоциации в соответствии с данными литературы является одним из неспецифических показателей опухолевой прогрессии, связанной в определенной степени с прогрессирующим гормональным дисбалансом. Как известно, развитие неоплазии различной локализации связано с нарушением иммунного статуса, формированием иммунодефицитных состояний различного генеза, в том числе и в связи с гиперпродукцией гормонов адаптации – АКТГ, глюкокортикоидов. Последние обуславливают не только апоптоз и лизис лимфоидной ткани и соответственно недостаточность механизмов элиминации опухолевых клеток, но и развитие эозинопении.

В зонах альтерации онкогенной, инфекционно-алергической, воспалительной природы эозинофилы обеспечивают инактивацию медиаторов альтерации – гистамина за счет освобождения гистаминазы, связывают и нейтрализуют гепарины, инактивируют иедленно-реагирующую субстанцию анафилаксии (комплекс лейкотриенов) за счет освобождения арилсульфатазы и фактор активации тромбоцитов при участии фосфолипаз. Наконец в зоне формирования неоплазии фагоцитируют чужеродные клетки, участвуют в формировании реакций гуморального и клеточного типов.

Однако, выявленный нами факт гиперэозинофилии можно объяснить активацией процессов миелопоэза в костном мозге, обеспечивающей высокий уровень эозинофилов в крови, несмотря на усиленный выход их в ткани под влиянием гормонов адаптации. Изменения показателей клеточного состава периферической крови имели место и на местнораспространенных стадиях (T3–4(а,в)N1-2M0) аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, когда

отмечались анемия, стабильное снижение содержания гемоглобина (Табл. 8, рис. 15).

Таблица 8

Динамика изменений показателей клеточного состава периферической крови на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M+m	M+m	P	M+m	P
Эритроциты ($*10^{12}$/л)	4,4±0,08	3,4±0,13	P<0,001	3,1±0,11	P<0,001 P1>0,05
Гемоглобин (г/л)	130,3±6,21	110,1±5,22	P<0,05	97,4±4,57	P<0,001 P1>0,05
Тромбоциты ($*10^{9}$ /л)	257,6±11,31	243,4±12,09	P>0,05	171,5±8,12	P<0,001 P1<0,001
СОЭ (мм/ч)	9,3±0,21	16,7±0,63	P<0,001	28,2±1,11	P<0,001 P1<0,001

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

Анемия в условиях онкопатологии может носить не только постгеморрагический характер, но и гемолитический, а также быть связанной с вытеснением ростков нормобластического эритропоэза в костном мозге опухолевыми клетками. Признаками развития местнораспространенных стадий (T3–4(а,в)N1-2M0) аденокарциномы ободочной кишки явилось и прогрессирующее ускорение СОЭ по сравнению с таковыми показателями предшествующей группы наблюдения.

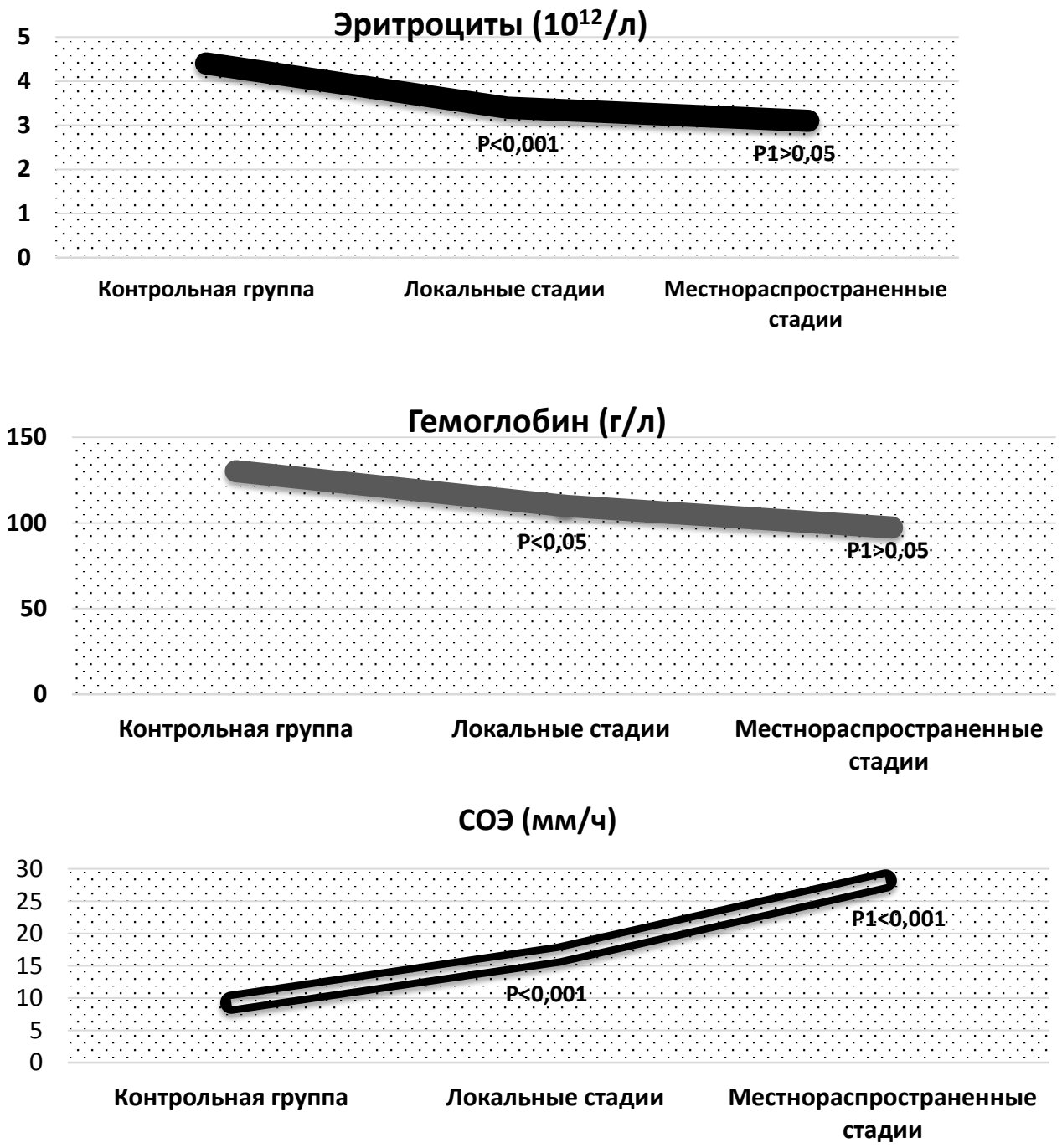


Рис.15. Динамика содержания в крови эритроцитов, гемоглобина, СОЭ на локальных и местнораспространенных стадиях аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки

Ускорение СОЭ – не только коррелирует с развитием анемии, но и в соответствии с общими закономерностями развития синдрома системного

воспалительного ответа при онкопатологии, связано с формированием диспротеинемии.

Таким образом, использование одного из традиционных методов обследования пациентов с различными формами патологии, в том числе и с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки позволило выявить совокупность гематологических показателей, косвенных признаков развития местно-распространенной формы метастазирования онкозаболевания. К ним относятся развитие анемии, тромбоцитопении, ускорение СОЭ, сдвиги в лейкоцитарной формуле в виде увеличения содержания палочкоядерных лейкоцитов, эозинофилия, лимфопения, моноцитопения. Последнее определяет целесообразность использования указанных показателей в дифференциальной диагностике онкопатологии ободочной кишки в сочетании с другими клинико-лабораторными тестами.

4.2. Состояние иммунологических механизмов защиты: роль динамических изменений субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов периферической крови в патогенезе аденокарциномы ободочной кишки.

Человек постоянно подвергается воздействию стрессорных раздражителей внешней среды, экологическому прессингу, в связи с чем неизбежно развитие мутагенных и эпигеномных воздействий на клетки различной морфофункциональной организации, развитие так называемого «пошагового» канцерогенеза. Однако лишь в ряде случаев онкогенно-трансформированные клетки вступают в фазы промоции и метастазирования, когда оказываются несостоятельными механизмы неспецифической резистентности, гуморального и клеточного иммунитета, обеспечивающие элиминацию опухолевых клеток (Моисеенко,2010; Helm J.F., Sandler R.S., 1999; Jean Faivre, 2001).

Целью данного фрагмента исследования явилось установление состояния активности клеточного и гуморального звеньев иммунитета на начальных этапах формирования и распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

В соответствии с поставленной целью проведена комплексная оценка субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня ряда иммуноглобулинов в двух группах онкологических больных.

Как показали исследования, развитие лимфопени на локальных стадиях распространения онкопатологии сочеталось с изменениями субпопуляционного состава лимфоцитов в виде снижения уровня в крови CD_3^+, CD_4^+ Т-лимфоцитов (Табл. 9, рис. 16).

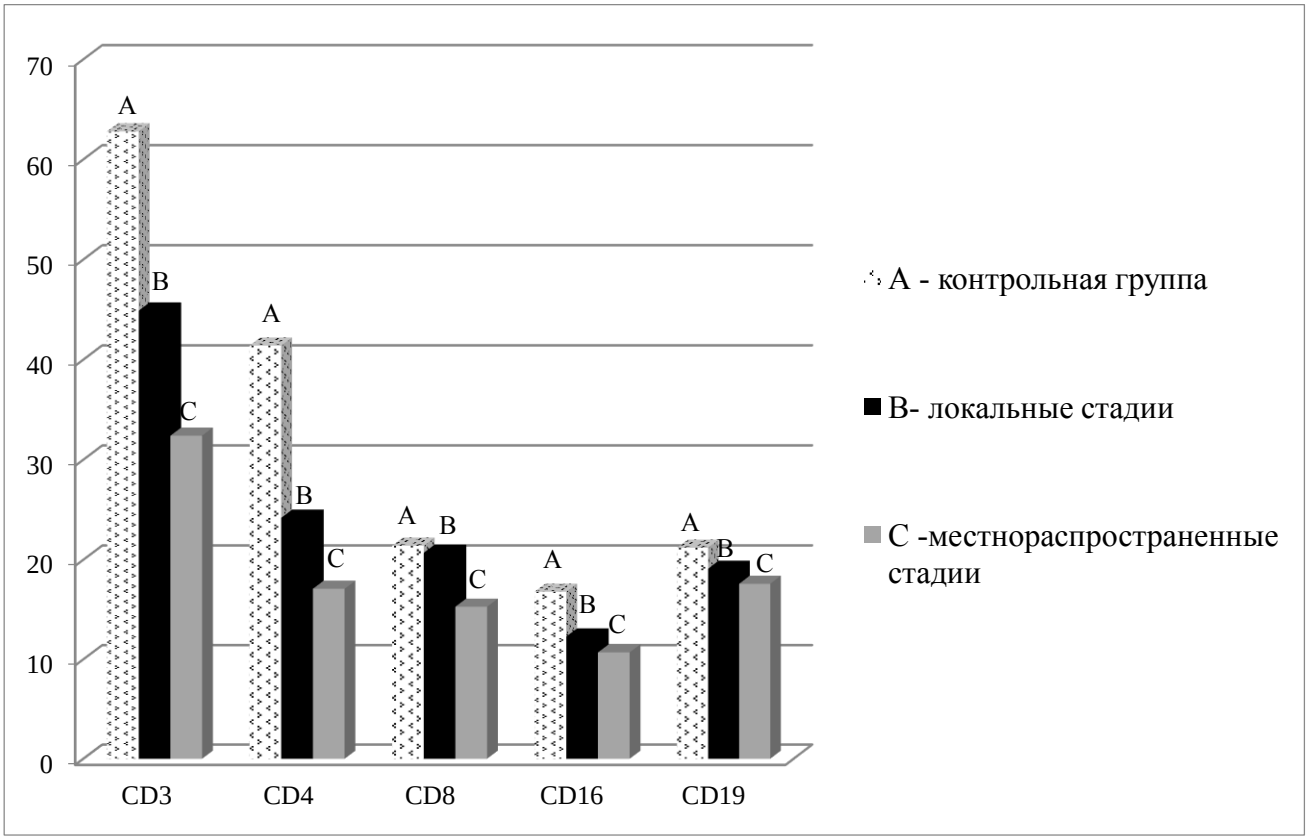


Рис. 16. Показатели содержания в крови отдельных субпопуляций лимфоцитов при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях развития неоплазии

В то же время обращает на себя внимание выраженное снижение уровня CD_{16} лимфоцитов или натуральных киллеров (NK-клеток) (табл. 9).

Как известно, вместе с моноцитами и тканевыми макрофагами, NK-клетки обеспечивают первую линию защиты против клеток, несущих генетически чужеродную информацию, в частности, малигнизированных клеток. Механизмы элиминации опухолевых клеток при участии NK-лимфоцитов включают реакции антителозависимого цитолиза. Таким образом, развитие стадий малигнизации и промоции при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки сочетается с недостаточностью начальных механизмов элиминации малигнизированных клеток, обеспечиваемых за счет макрофагальной реакции и антителозависимого цитолиза при участии NK-клеток.

Как оказалось далее, на фоне развития лимфопении заметно снижалось и содержание CD_3^+ Т-лимфоцитов за счет падения уровня CD_4^+ Т-хелперов. Последние, как известно, обеспечивают включение в иммунный ответ гуморальное или клеточное звенья иммунитета при участии CD_{19}^+-В или CD_8^+-Т лимфоцитов.

Как показали проведенные нами исследования, уровень CD_{19}-лимфоцитов в крови не изменился на ранних стадиях аденокарциномы ободочной кишки. Оставалось в пределах нормы и содержание в крови иммуноглобулинов исследуемых классов (Ig G, Ig M, Ig A) (табл. 10, рис. 17).

Обнаруженное нами отсутствие изменений содержания CD_{19}^+ В-лимфоцитов, а также иммуноглобулинов классов G, A, M в крови на начальных стадиях опухолевого процесса при аденокарциноме ободочной кишки свидетельствует о том, что функциональное состояние В-системы лимфоцитов не является определяющим фактором в инициации канцерогенеза. В то же время становится очевидным факт дисрегуляции

взаимодействия в системе Т-зависимых CD_3^+ лимфоцитов, на что указывает снижение показателя CD_4^+/CD_8^+ лимфоцитов.

Таблица 9

Показатели содержания в крови отдельных субпопуляций лимфоцитов при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях развития неоплазии

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
CD_3^+ (%)	62,8±3,03	44,9±2,11	P<0,001	32,4±1,52	P<0,001 P1<0,001
CD_4^+ (%)	41,4±1,88	24,2±1,08	P<0,001	17,1±0,55	P<0,001 P1<0,001
CD_8^+ (%)	21,4±0,71	20,7±0,87	P>0,05	15,3±0,46	P<0,001 P1<0,001
CD_4^+/CD_8^+	1,93±0,061	1,17±0,037	P<0,001	1,12±0,028	P<0,001 P1>0,05
CD_{16}^+ (%)	16,8±0,41	12,3±0,31	P<0,001	10,7±0,27	P<0,001 P1<0,001
CD_{19}^+ (%)	21,2±0,86	19,1±0,63	P>0,05	17,6±0,58	P<0,05 P1>0,05

Примечание
n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

Как указывалось ранее, при развитии метастатических стадий аденокарциномы ободочной кишки возникали характерные проявления системного действия опухоли на организм в виде развития лейкоцитоза, сдвига лейкоцитарной формулы влево, эозинофилии, лимфопении, ускорения СОЭ. Последние сочетались с более значительными изменениями субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови: падение уровня CD_3^+- субпопуляции Т-лимфоцитов за счет CD_4^+ Т-лимфоцитов, CD_8^+ Т-лимфоцитов, а также CD_{16}^+ лимфоцитов, выраженные в более значительной степени, чем на ранних стадиях заболевания (табл. 9).

На метастатических стадиях аденокарциномы возникало иммунодефецитное состояние и по В-системе лимфоцитов: количество CD_{19}^+ В- лимфоцитов заметно снижалось, падал и уровень продуцируемых иммуноглобулинов классов G, A, M (табл. 10, рис. 17).

Обнаруженное нами прогрессирующее снижение уровня CD_3^+ лимфоцитов, за счет падения содержания CD_4^+ и CD_8^+ Т-лимфоцитов на метастатических стадиях опухолевого процесса свидетельствует о подавлении не только хелперной функции Т-лимфоцитов, но и эфферентного звена клеточного иммунитета. Как известно, CD_8^+ –Т-лимфоциты обеспечивают цитолиз клеток, несущих генетически-чужеродную информацию, развитие «киллерного» удара, коллоидно-осмотического шока, а также продукцию лимфокинов – медиаторов клеточной гиперчувствительности. Следовательно, при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки в условиях дефицита CD_8^+ – Т-лимфоцитов подавляются указанные механизмы антицеллюлярной защиты организма от малигнизированных клеток.

Дефицит CD_4^+ – Т-лимфоцитов на метастатических стадиях заболевания сопровождается нарушением вовлечения в иммунный процесс В-системы лимфоцитов, на что указывало уменьшение субпопуляции CD_{19}^+ – клеток, а также уровня иммуноглобулинов классов G, A, M в крови.

Таблица 10

Показатели уровня иммуноглобулинов и CD19^{+}-В-лимфоцитов в крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
IgG (г/л)	14,43±0,58	14,02±0,39	P>0,05	13,15±0,17	P<0,05 P1>0,05
IgA (г/л)	3,32±0,064	2,95±0,046	P>0,05	2,72±0,034	P<0,05 P1>0,05
IgM (г/л)	1,81±0,084	1,67±0,077	P>0,05	1,56±0,069	P<0,05 P1>0,05

n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

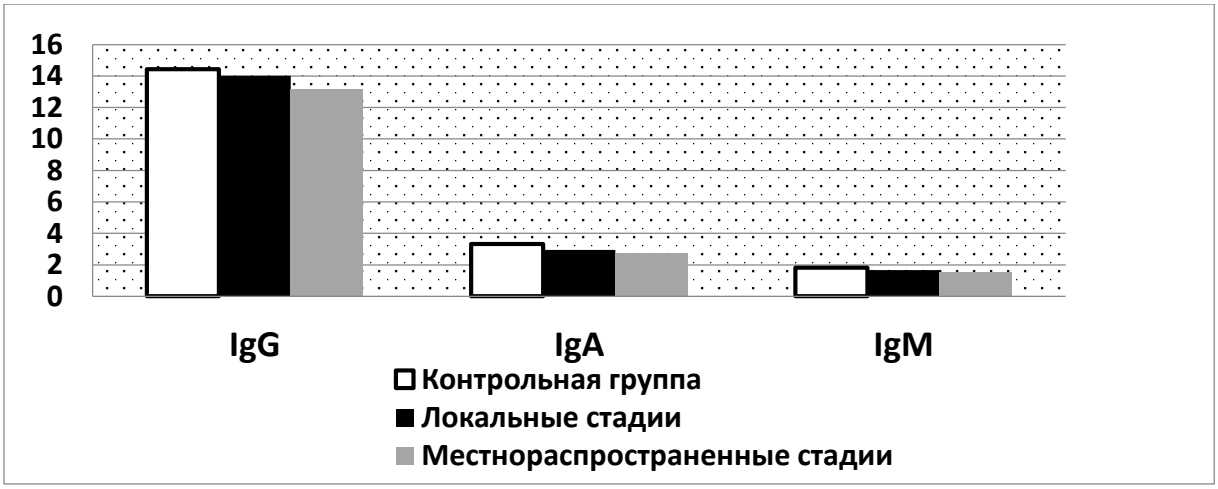


Рис. 17. Показатели уровня иммуноглобулинов в крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях развития неоплазии

Таким образом, формирование метастатических стадий аденокарциномы ободочной кишки происходит на фоне прогрессирующей недостаточности В-и Т-систем лимфоцитов, NK-клеток, моноцитов крови, обеспечивающих в условиях нормы адекватную элиминацию трансформированных клеток, несущих генетически чужеродную информацию.

Сравнительная оценка состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета на разных стадиях распространения аденокарциномы ободочной кишки позволила установить патогенетическую взаимосвязь между формированием Т-зависимого, В-зависимого иммунодефицита и развитием опухолевой прогрессии.

Таким образом:

1. Одним из патогенетических факторов распространения неоплазии при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки является недостаточность механизмов элиминации опухолевых клеток, обусловленная развитием Т- и В- зависимого иммунодефицитного состояния.

2. Развитие стадий инициации и промоции у пациентов с локальными и местнораспространенными стадиями аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки сочетается со сдвигами клеточного состава периферической крови в виде лимфопении, моноцитопении, снижения уровня субпопуляции $CD_{16,}$ а также CD_3^+ лимфоцитов за счет CD_4^+ –Т-хелперов.

3. Обнаружен параллелизм между последовательным формированием локально-региональной стадией (T1–2N0M0) заболевания, стадией метастазирования (T3–4(а,в)N1-2M0) и прогрессирующим иммунодефицитом соответственно по Т- и В системам лимфоцитов, уровню NK- клеток.

4. В качестве дополнительных прогностических критериев возможности формирования метастазов при аденокарциноме восходящего

отдела ободочной кишки могут быть использованы показатели клеточного состава периферической крови и субпопуляционного состава лимфоцитов.

5. Прогностически неблагоприятными критериями развития опухолевой прогрессии и формирования процесса метастазирования, при отсутствии соответствующей клинической манифестации, являются прогрессирующие в динамике заболевания аденокарциномой лимфопения, моноцитопения, снижение уровня NK- клеток, CD_3^+ CD_4^+ CD_8^+ - Т-лимфоцитов, а затем CD_{19}^+ – В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов классов G, A, M.

4.3. Диагностическое значение изменений цитокинового профиля крови в динамике распространения аденокарциномы ободочной кишки

Цитокины – это класс полипептидных регуляторов, обеспечивающих не только межклеточное взаимодействие в лимфоцитарной, моноцитарно-макрофагальной системах, но и мобилизацию специфических иммунологических механизмов защиты, а также факторов неспецифической резистентности в ответ на действие чрезвычайных стрессорных раздражителей, угрожающих гомеостазу, в частности при формированиях неоплазии.

Изучение цитокинов начато с сороковых годов XX века и к настоящему моменту идентифицирована структура около 300 веществ, характерными признаками которых являются плейотропность, взаимозаменяемость биологического действия, опосредованность эффектов через комплиментарные рецепторы (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008).

Класс цитокинов включает группы интерферонов, интерлейкинов, ростовых и колонийстимулирующих факторов, хемокинов и др.

В данном фрагменте исследований проведена сравнительная оценка содержания провоспалительных цитокинов в крови (IL 1, IL 6) и TNF α, а

также GCSF в двух группах пациентов с различными стадиями распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Как оказалось, уже на начальных стадиях опухолевого процесса обнаруживались выраженные изменения баланса цитокинов. Последние характеризовались повышением уровня в крови таких цитокинов, как IL-1,

TNF α, GCSF (табл. 11, рис. 18).

Касаясь биологической значимости обнаруженного нами возрастания уровня IL-1 в крови, следует отметить, что указанный цитокин обладает способностью активизировать Т-клеточный ответ на антигены, усиливает пролиферацию CD_4^+ лимфоцитов, рост и дифференцировку В-клеток, индуцирует продукцию IL-2 и колониестимулирующих факторов, активирует процессы гемопоэза на уровне стволовых клеток. Таким образом IL-1 обеспечивает мобилизацию специфических иммунных механизмов защиты и механизмов неспецифической резистентности организма против малигнизированных клеток. Однако биологческие эффекты IL-1 крайне противоречивы. Установлено, что указанный цитокин обладает протоонкогенным действием за счет подавления экспрессии на малигнизированных клетках антигенов гистосовместимости МНС II и тем самым препятствует развитию феномена «двойного» распознавания малигнизированных клеток CD_4^+ Т-хелперами. (Кетлинский С.А, 2008; Симбирцев А. С., 2013).

Как указано выше, при развитии начальных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки возникало и усиление индуцибельного синтеза GCSF, TNF-α. В то же время уровень IL6 не отличался от показателей группы контроля, а содержание колониестимулирующего фактора (GCSF) значительно увеличивалось (табл. 11, рис. 18).

В соответствии с данными литературы возрастание уровня GCSF, безусловно, имеет защитно-приспособительный характер, обеспечивая усиление лейкопоэза и соответственно фагоцитарную активность лейкоцитов.

Таблица 11

Показатели содержания провоспалительных цитокинов крови и GCSF, при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях заболевания

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P
IL-1 (пг/мл)	17,2±0,73	20,1±0,89	P<0,05	22,7±1,02	P<0,001 P1>0,05
IL-6 (пг/мл)	5,1±0,14	5,8±0,18	P>0,05	6,4±0,22	P<0,01 P1>0,05
TNF-α (пг/мл)	10,6±0,41	14,5±0,59	P<0,001	16,8±0,71	P<0,001 P1<0,05
GCSF (пг/мл)	3,6±0,06	4,2±0,09	P<0,05	4,9±0,12	P<0,001 P1<0,05

n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологи

Относительно выявленного нами факта возрастания уровня TNF-α в крови, следует отметить, что фактор некроза опухоли альфа – это группа цитокинов, объединённых в семейство фактора некроза опухоли, обладающих способностью усиливать продукцию IL-1, IL-6, а также аутокринно стимулировать продукцию TNF-α и активировать антителообразование В-лимфоцитами. В то же время TNF-α-обладает высокой цитотоксичностью, вызывая геморрагический некроз опухоли.

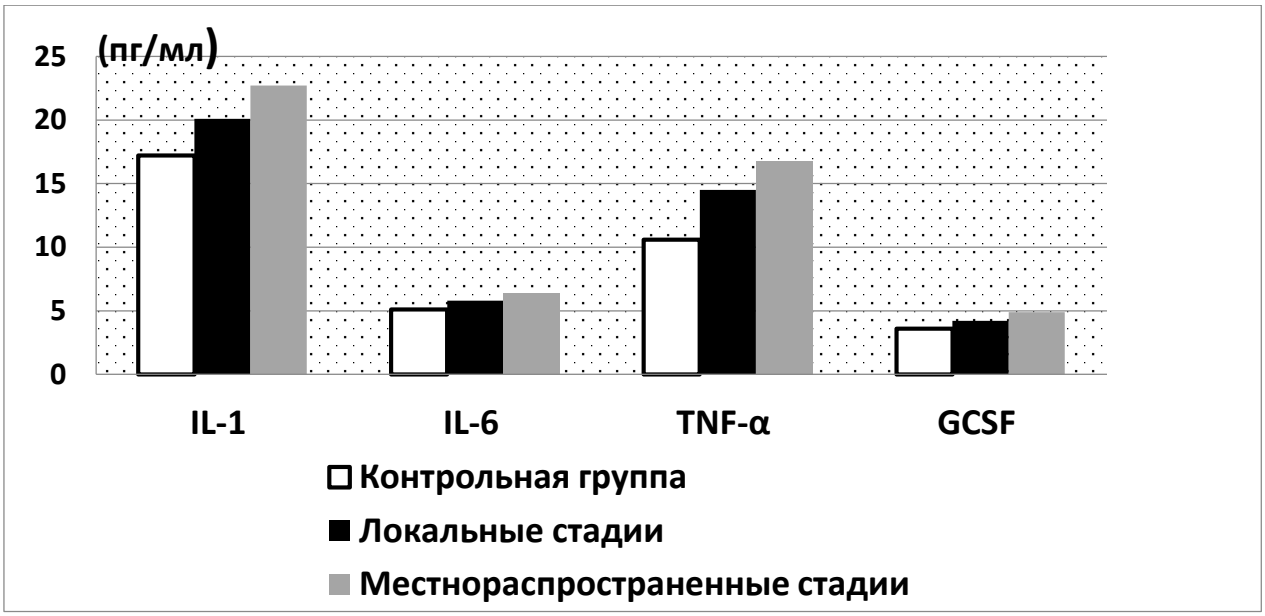


Рис. 18. Показатели содержания провоспалительных цитокинов крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях развития неоплазии

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о развитии не только локального, но и системного, цитокинопосредованного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм уже на начальной стадии заболевания.

Последующие исследования цитокинового профиля периферической крови больных аденокарциномой ободочной кишки на местно-распространенных стадиях заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0) позволили обнаружить параллелизм между прогрессирующим увеличением содержания в крови провоспалительных цитокинов и развитием процессов метастазирования опухолевого процесса. Так, в этот период наблюдения впервые отмечалось возрастание в крови уровня IL6, а также дальнейшее увеличение уровня GCSF и TNF α. Содержание в крови IL-1 оставалось стабильно высоким (табл. 11).

Анализируя значение обнаруженного нами увеличения уровня IL 6 в крови больных на метастатических стадиях аденокарциномы ободочной кишки, следует отметить, что данный цитокин проявляет прото- и

антионкогенные эффекты, обладает неоднозначным паракринным и системным действием. С одной стороны, IL 6 стимулирует синтез антител В-лимфоцитами, обеспечивая возможность развития антитело - зависимого цитолиза опухолевых клеток, а с другой стороны- оказывает протоонкогенный эффект за счёт подавления апоптоза опухолевых клеток, стимуляции их пролиферации и неоангиогенеза (Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016)

Таким образом, нам удалось установить определенные закономерности системного действия опухоли на организм на локальных и местно-распространенных стадиях заболевания. Последние могут быть представлены следующим образом:

1) Закономерными проявлениями паранеопластических расстройств при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки являются изменения уровня провоспалительных цитокинов в крови, обладающих аутокринным, паракринным и системным действием на организм и соответственно, регулирующих интенсивность пролиферации опухолевых клеток в зоне неоплазии, а также развитие системных, функциональных и метаболических расстройств.

2) Формирование локальных стадий изучаемой онкопатологии (T1–2N0M0) закономерно сочетается с возрастанием содержания в крови IL-1, TNF-α, GCSF, при отсутствии изменений уровня IL-6

3) На местнораспространенных стадиях развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки возникают более выраженные изменения цитокинового профиля крови: впервые возрастает уровень IL-6 в крови, прогрессирующе увеличевается содержание TNF-α и GCSF в крови. Уровень IL-1 в крови остается стабильно высоким.

4) Мониторинг показателей содержания провоспалительных цитокинов в крови больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки может быть использован в качестве дополнительного способа оценки эффективности терапии заболевания, выявления клинически-не

манифестирующих метастазов. Последнее обусловлено тем фактом, что интенсификация синтеза провоспалительных цитокинов носит индуцибельный характер, обусловленный наличием в организме человека генетически-чужеродных антигенов-аллергенов, экспрессируемых, в частности, на мембранах малигнизированных клеток.

4.4. Динамические изменения содержания в крови молекул клеточной адгезии и показателей коагуляционного потенциала крови – как объективные критерии системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм

Целью данного фрагмента исследования явилось установление патогенетической взаимосвязи, а также диагностической и прогностической значимости развития эндотелиальной дисфункции, нарушений тромбоцитарно-сосудистого гемостаза и коагуляционного потенциала крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местно-распространенных стадиях заболевания.

Как оказалось, уже на локальных (T1–2N0M0) стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки отмечалось резкое повышение содержания в крови P, E-лектинов и молекул клеточной адгезии (SICAM) (табл. 13). Параллельно отмечались гиперкоагуляционные сдвиги в коагулограмме- увеличивалось тромбиновое время и уровень содержания фибриногена в крови (табл. 12).

Метнораспространенные стадии (T3–4(а,в)N1-2M0) аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки характеризовались усугублением нарушения функции эндотелия, о чем свидетельствовало еще большее увеличение содержания адгезивных молекул – P,- E-селектинов в крови а также SICAM. Фаза гиперкоагуляции у данного контингента больных сменялась гипокоагуляционными расстройствами, проявляющимися

уменьшением протромбинового индекса, увеличением тромбинового времени и уменьшения уровня фибриногена.

Таблица 12

Показатели коагулограммы у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P/P1
МНО (0.85-1,25)	1,19±0,81	1.15±0.52	P>0,05	0.74±0.87	P>0,05 P1>0,05
Протромбиновый индекс (90-105%)	100,6±0.75	115,6±3,34	P<0,05	88,3±1.37	P<0,001 P1<0,001
АЧТВ-тест (25-35 сек.)	28.6±0,70	27,9±0,74	P>0,05	27,5±0,71	P>0,05 P1>0,05
Тромбиновое время (15-17 сек)	15,43±0,15	16,17±0,21	P>0,05	18,08±0,14	P<0,001 P1<0,001
Фибриноген (2-4 г/л)	3,06±0,16	5,23±0,17	P<0,05	1,67±0,12	P<0,001 P1<0,001
Тромбоциты ($*10^9$ /л)	265,6±10,22	251,4±10,09	P>0,05	181,5±8,11	P<0,001 P1<0,001

n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологии

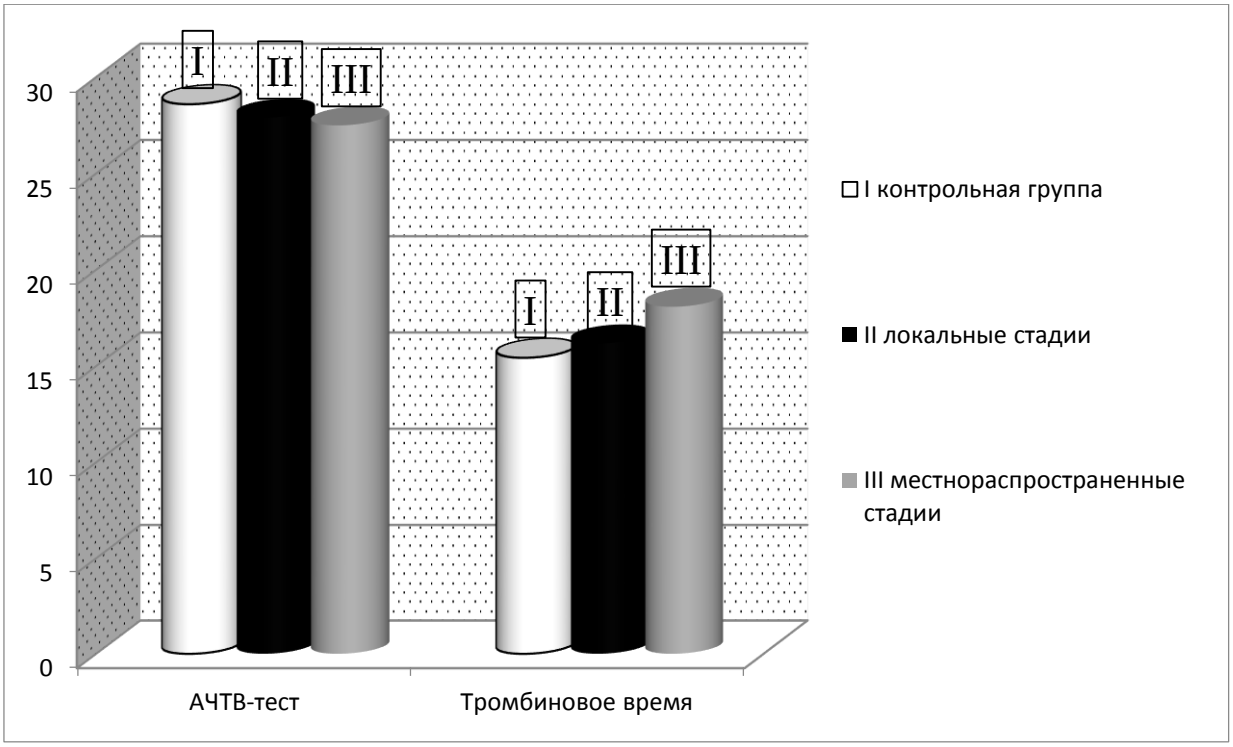


Рис. 19. Показатели коагулограммы при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местнораспространенных стадиях развития неоплазии

Таким образом, обнаруженный нами факт возрастания адгезивных молекул (рис. 20) и изменений коагуляционного потенциала крови (рис. 19) не только дополняет современные представления о возможных механизмах метастазирования атипичных клеток, но и может быть использован для формулировки дополнительных критериев оценки системного действия опухоли на организм.

Таблица 13

Показатели содержания в крови адгезивных молекул эндотелия у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки

Группы наблюдения / Изучаемые показатели	Контрольная группа	Аденокарцинома восходящего отдела ободочной кишки			
		Локальные стадии заболевания (T1–2N0M0)		Местнораспространенные стадии заболевания (T3–4(а,в)N1-2M0)	
	M±m	M±m	P	M±m	P/P1
P-селектин 36-262 (нг/мл)	203,4±7,97	214,7±3,.34	P>0,05	293,5±13,4	P<0,001 P1<0,001
E-селектин 1-75 (нг/мл)	41,9±1,9	64,6±2,6	P<0,001	219,4±5,3	P<0,001 P1<0,001
SICAM 130-400 (нг/мл)	316,8±4,3	414,5±9,5	P<0,001	438,5±6,3	P<0,001 P1<0,001

n- во всех группах наблюдений 30
P - рассчитано по отношению к соответствующим показателям группы контроля;
P1 - рассчитано по отношению к соответствующим показателям у больных с локальными стадиями этой же формы патологии

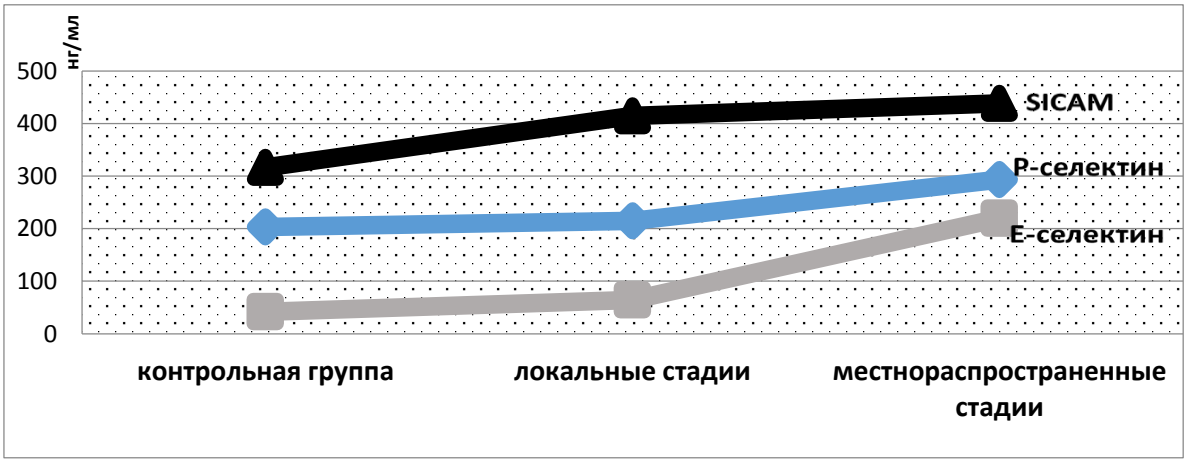


Рис. 20. Показатели содержания в крови адгезивных молекул эндотелия у больных аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки на локальных и местно-распространенных стадиях развития неоплазии

Резюмируя в целом результаты диссертационного исследования следует заключить, что полученные нами данные о патогенетической взаимосвязи системных метаболических и функциональных расстройств со стадиями распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки позволили впервые сформулировать алгоритм диагностики метаболических и функциональных расстройств системного действия неоплазии на организм, впервые дать объективную оценку общесоматических расстройств на локальных и местно-распространенных стадиях указанной онкопатологии. Схема патогенеза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, разработанная на основе данных современной литературы и многофакторной оценки характера системных паранеопластических расстройств значительно дополняет не только современные взгляды на механизмы инициации и прогрессирования указанной онкопатологии, но и расширяет традиционные диагностические и прогностические критерии общесоматических нарушений, возникающих в результате системного действия опухоли на организм, а также возможность оптимизации традиционных методов лечения изучаемой онкопатологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Решение проблем этиологии и патогенеза неоплазий различной локализации, патогенетического обоснования новых принципов ранней диагностики и прогнозрования развития онкопатологии приобретает все большую значимость в связи с неуклонным ростом онкологических заболеваний (Чиссов В.И., 2009; Воробьев Г.И. и др., 2010; Давыдов М.И, 2014).

К настоящему моменту четко определены возможные этиологические факторы канцерогенеза, включающие действие на организм патогенов физической, химической, биологической природы, вызывающих онкогенную трансформацию клеток в процессе развития мутаций или за счет эпигеномных механизмов действия (Кныш В.И., 1997; Яицкий Н.А., Седов В.М., Васильев С.В., 2004; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2007; Чиссов В.И., 2009).

Несмотря на гетерогенную этиологию заболеваний, результирующий эффект действия канцерогенов на клетки различной морфофункциональной организации проявляется стереотипным комплексом реакций в виде активации протоонкогенов, подавления активности супрессирующих генов, а также генов апоптоза, нарушения активности ДНК-репарирующих ферментов (Green D.R., 1998; 2000).

В основе процессов малигнизации клеток, формирования функционального и метаболического атипизма лежит генетическая нестабильность, проявляющаяся пошаговым закреплением в клетке совокупностей мутаций в различных участках ДНК.

В настоящий момент является общепризнанной концепция, согластно которой в основе малигнизации клеток, независимо от изначальных особенностей их морфофункциональной рганизации лежит активация протоонкогенов и трансформация их в онкогены на фоне подавления активности опухолевых супрессоров (антионкогенов, рецессивных опухолевых генов) (Копнин Б.П., 2006, Абелев Г. И., Эрайзер Т. Л., 2008;

Глушанкова А.Н. и др., 2014; Stambolic V., Mark T. W., Woodgett J. R., 1999; Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P., 2012).

Как известно, к числу протоонкогенов относятся структуры ДНК, обеспечивающие перенос митогенного сигнала, начиная от факторов роста и заканчивая транскрипционными факторами. Число протоонкогенов постоянно растет в соответствии с достижениями онкогенетики, включая такие протоонкогены, как ras, raf, myc, bcl2, jun, fos и другие. Активация протоонкогенов может происходить в результате дефекта регуляции их транскрипции, амплификации, а также в результате различных мутаций.

Белки, кодируемые протоонкогенами включают следующие факторы: 1) фактор роста фибробластов; 2) тирозиновые протеинкиназы в частности факторы роста эпидермиса (ErbB, erbB2), фактор роста тромбоцитов (kif, fms-Gsf-1), семейство рецепторов инсулина (ras, met, trk); 3) подмембранные тирозинкиназы; 4) С-белки семейства ras, bcl 2 5) ядерные белки, в частности, активаторы транскриптазы: семейства jun, fos, myb, maf) и многие другие.

В обнаружении, систематизации, характеристике протоонкогенов необходимо отдать должное уважение работам отечественных исследователей (Б.П. Копнин 1990, 2000, 2002, А.В. Лихтенштейн, 1992, Г.И. Абелев 2008).

Развитие онкогенной трансформации клеток в значительной части случаев связано не только с активацией протоонкогенов, но и с подавлением активности супрессирующих генов, в частности, «главного хранителя генома» p53, а также гена Rb, формирующего механизм checkpoint, генов p16 и p21 – блокаторов комплексов cyclin Cdk и других (Sherr C.J., Roberts J.M., 1999, Roovers K., Assoian R.K., 2000, Blume-Jensen P., Hunter T., 2001, Evan G.I., Vousden K.H., 2001).

Касаясь биологической значимости супрессирующих генов, следует отметить, что в условиях нормы белок p53 связывается со специфическими последовательными ДНК, находящимися в промоторных участках других генов, и регулирует их активность. В настоящее время идентифицировано

несколько разновидностей p53 генов: ген-ингибитор циклинзависимой киназы, проапоптотический ген bax, протоонкоген mdl2. Во многих опухолевых клетках гены p53 делецированы или мутантны.

Функциональная инактивация p53 может возникать под влиянием ряда (вирусов HPV папилломатоза человека), внутриклеточных белков, образуемых, в частности, при амплификации гена mdm2. Дефект гена p53 приводит к нестабильности генома, дефекту контрольных пунктов G1|S, нарушению апоптоза.

Ген-супрессор APC (Adematous Polyposis Coli) детерминирует образование белка, участвующего совместно с цитоплазматическими белками В-катенинами и кальций-зависимыми белками-кодгеринами в формировании межклеточного взаимодействия, а также в сигнальном пути WNT семейства регуляторов транскрипции Tcf. Белки семейства APC регулируют тканевой гомеостаз, постоянство обновляемых клеток.

Ген Rb осуществляет негативную регуляцию пролиферации клеток, блокируя вход клеток в S-фазу, а также определяет способность клеток выходить из митотического цикла в фазу Go.

Делеции участка длинного плеча q14 хромосом, содержащих супрессирующие гены, в частности Rb коррелируют с частотой развития наследственных и спорадических ретинобластом, а также остеосарком.

Разделение генов на онкогены и антионкогены условно, так онкоген H-ras, гены erbl, p53 в ряде случаев могут проявлять протоонкогенное дейтвие, хотя в громадном большинстве случаев канцерогенеза проявляют антионкогенное действие. Достижения онкогенетиков различных стран мира имеют больше теоретическую, чем практическую значимость в объективной оценке общесоматических асстройств на той или иной стадии онкопатологии, эффективности проведенной терапии, диагностике отдаленных, клинически не манифестирующих метастазов и наконец в прогнозировании течения заболевания в ближайшие сроки развития патологии.

Следует отметить, что малигнизация клеток ещё не означает развития последующих стадий канцерогенеза: промоции и опухолевой прогрессии. При сохранности механизмов неспецифической резистентности организма, обеспечиваемой моноцитарно-макрофагальной системой, белками острой фазы, системой комплемента, пропердина, лактоферрина в сочетании с высокой активностью В и Т-систем лимфоцитов, малигнизированные клетки достаточно быстро элиминируются из организма (В.М. Попков, Н.П. Чеснокова, Н.Б. Захарова и соавт., 2016).

Очевидна важная роль гормонального баланса в формировании противоопухолевой защиты организма. Как известно, избыточная продукция гормонов адаптации (АКТГ, глюкокортикоидов), с одной стороны, обеспечивает формирование механизмов неспецифической резистентности на органном и клеточном уровнях, а с другой стороны вызывает лизис лимфоидной ткани, подавляет фагоцитарную активность лейкоцитов, вызывает развитие вторичного иммунодефицитного состояния. Последнее является одним из решающих факторов нарушения элиминации опухолевых клеток из организма, способствуя их размножению и метастазированию.

В соответствии с данными литературы, важная роль в опухолевой прогрессии отводится характеру нарушений метаболического статуса, в частности активации процессов свободнорадикальной деградации биомембран клеток, процессам интенсификации липопероксидации с последующей активацией генных и хромосомных мутаций, а также изменением контактного взаимодействия клеток. Как известно, при усилении процессов липопероксидации под влиянием свободных радикалов ослабляется контактное взаимодействие клеток, что облегчает метастазирование трансформированных клеток (Попков В.М., Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю., 2012).

Обращает на себя внимание факт отсутствия систематизированных сведений в литературе относительно характера и механизмов развития

системных паранеопластических расстройств, в частности свободнорадикальной дестабилизации биологических мембран клеток, иммунного, цитокинового статусов, гормонального баланса крови при раке восходящего отдела ободочной кишки в динамике распространения опухолевого процесса.

В связи с отсутствием целенаправленных исследований характера и механизмов развития паранеопластических расстройств, очевидна и недостаточность диагностических критериев системного действия опухоли на организм на различных стадиях опухолевого процесса при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки. Тем не менее, мониторинг показателей метаболического, иммунного, цитокинового статусов, гормонального баланса, установление роли эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови в патогенезе неоплазии толстой кишки значительно расширит традиционные диагностические и прогностические критерии развития указанной патологии.

Вышеизложенное определило цель данного исследования, направленную на оптимизацию традиционных принципов диагностики, оценки эффективности комплексной терапии заболевания и ближайего прогнозирования его развития на основе установления новых закономерностей системного действия опухоли на организм в период развития локальных и местно-распространённых стадий онкопатологии.

Изучение патогенеза системных паранеопластических расстройств при аденокарциноме толстой кишки не случайно. В последние годы продолжает возрастать заболеваемость раком толстой кишки в различных странах мира, занимая стабильно 3-4 места в структуре общей онкопатологии в России и 2-3 места среди причин смерти от онкологических заболеваний в мире (Хомутова Е.Ю., Игнатьев Ю.Т., Полуэктов В.Л., и соавт., 2010; В.В.Егоренков, Ф.В.Моисеенко,2010; Helm J.F., Sandler R.S., 1999; Jean Faivre, 2001).

Ежегодно в мире регистрируется около 800000 больных колоректальным раком, развитие которого в значительных количествах случаев завершается летальным исходом (В.П. Земляной, Т.Н. Трофимова, С.Л. Непомнящая и соавт., 2005). В то же время возрасла пятилетняя выживаемость на 12% за последние 10-15 лет. (Levin B., Lieberman D.A., McFarland B. et al., 2008).

В задачи данного исследования входило изучение ряда показателей метаболического статуса, отражающих, в частности, развитие синдрома системного воспалительного ответа, сдвигов электролитного баланса крови, а также состояния процессов свободнорадикальной дестабилизации биологических мембран клеток по уровню содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации (МДА и ДК) и антиоксидантной систем крови.

Одной из задач диссертационной работы явилось установление взаимосвязи активности процессов липопероксидации и недостаточности антиоксидантной системы крови со степенью аутоинтоксикации, изменениями адгезивных свойств эндотелия сосудов и коагуляционного потенциала крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки. Последнее имеет, безусловно, практическую значимость в аспекте расширения диапазона диагностических критериев системного действия неоплазии на организм.

И наконец, к числу ведущих направлений работы относится установление закономерности изменений клеточного состава периферической крови, субпопуляционного состава лимфоцитов (CD_{19}^+, CD_{16}^+, CD_3^+, CD_4^+, CD_8^+), уровня иммуноглобулинов крови (Ig G, Ig A, Ig M), цитокинового профиля крови по содержанию IL-1, IL-6, TNFα, GCSF. Указанные исследования были направлены, в частности на установление факта недостаточности иммунологических механизмов защиты в процессах

элиминации малигнизированных клеток на локальных и местно-распространённых стадиях онкозаболевания.

На решение проблем патогенеза системных метаболических расстройств, динамических сдвигов клеточного состава периферической крови и иммунного статуса крови было направлено и исследование по изучению гормонального баланса у пациентов с локальными и местно-распространёнными стадиями онкопатологии, в частности, определение содержания в крови уровня АКТГ, СТГ, кортизола.

Анализируя результаты проведенных в данной работе закономерностей системного действия неоплазии на организм, в частности, изменений ряда показателей метаболического статуса, следует отметить, что ранними объективными критериями метаболических сдвигов при локальных стадиях заболевания являются гипогликемия и увеличение содержания в крови острофазных белков – С-реактивного, а также фибриногена. В то же время не выявлено сколько-нибудь выраженных изменений содержания в крови альбуминов и глобулинов, уровня электролитов – натрия, калия и кальция, мочевины и билирубна крови.

По мере развития опухолевого процесса обнаруживались более глубокие нарушения метаболического статуса в виде усиливающейся гипогликемии, развития диспротеинемии, резкого возрастания уровня С-реактивного белка и фибриногена в крови.

Нарушения метаболического статуса при онкологических заболеваниях, в том числе и при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки, безусловно, связаны с развитием перифокальной воспалительной реакции и цитокинопосредованного синдрома системного воспалительного ответа. При этом возникает выраженная активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, обеспечивающей развитие адаптивных реакций, изменения функций многих органов и систем, в том числе и белок-синтетическую функцию печени, выделительную функцию почек, нарушение

электролитного баланса. Данное положение может быть аргументировано результатом собстенных исследований гормонального баланса крови при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки. Так, уже на локальных стадиях патологии имели место возрастание уровня в крови гормонов АКТГ, кортизола при одновременном усилении индуцированного синтеза провоспалительных цитокинов: IL-1, TNFα, а также GCSF.

Исключительно важная роль в оценке характера метаболических расстройств при аденокарциноме восходящего отдела ободочной кишки отводится изучению состояния процессов липопероксидации и антиоксидантной систем крови. Как известно, в условиях нормы процессы липопероксидации сбалансированы с адекватной активацией антиоксидантных систем клеток и биологических жидкостей, играют важную роль в реакциях окислительного фосфорилирования, биосинтеза нуклеиновых кислот, простагландинов, процессах митоза, метаболизма биологически-активных соединений. (Cerutti PA., 1994; Смирнова Л.П., Кондакова И.В., 1999; Bairati I., Meyer F., Gélinas M. et al., 2005; Lee H.C., Wei Y.H., 2009, Р.Р. Фархутдинов, Ш.И. Мусин, Ш.Р. Кзыргалин, 2011). Чрезмерная интенсификация липопероксидации лежит в основе разрушения липидных структур цитоплазматической, митохондриальной, лизосомальной мембран клеток, в окислении SH-групп ферментных и структурных белков, модификации белковых и липидных компонентов биологических жидкостей и межклеточных структур, что в целом приобретает характер «метаболического хаоса» (Е.В. Зяблов, В.Г. Беспалов, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков, 2010). В процессе воздействия свободных радикалов на ДНК могут возникать мутагенные структуры типа 8-гидроксиаденина и 8-гидроксигуанина (ОН-аддукта), способствующие малигнизации клеток (Л.М. Берштейн, 2000).

Результаты проведенных нами исследований свидетельствовали об активации свободнорадикальной дестабилизации биомембран клеток за счёт усиления процессов липопероксидации. Об этом свидетельствовало

увеличение содержания в крови таких показателей как МДА, ДК, а также снижение перекисной резистентности эритроцитов, возрастание показателя содержания в крови молекул средней массы (МСМ), включающего, в частности, и продукты липопероксидации.

Источниками образования свободных радикалов являются окислительно-восстановительные реакции в митохондриях, монооксигеназные реакции в эндоплазматическом ретикулуме с участием цитохрома р 450, фагоцитоз в процессе «метаболического взрыва». Активные формы кислорода образуются в организме и неферментативным путем в процессе окисления катехоламинов, гидрохинонов, лейкотриенов и т.д. (Ленинджер А., 1999; Янковский О.Ю. 2000; Попков В.М., Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю., 2012).

Инициация свободнорадикального перекисного окисления липидов может возникать под влиянием различных патогенных факторов, однако ведущая роль в этом процессе должна быть отведена активным формам кислорода. Последние прежде всего вступают во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (линолевой, линоленовой, арахидоновой) с последующим образованием диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и третичных продуктов окисления. Многие из перечисленных соединений обладают токсическими свойствами, вызывают разрушение биомембран клеток, гликозаминогликанов основного вщества соединительной ткани, взаимодействуя с белками. Активные формы кислорода (АФК) снижают уровень мономеров, образуют липопротеиновые комплексы (Guyton K.Z., Kensler T.W., 1993, Kondakova I., Peiretti F., Nalbone G., Lafont H., 1995, Зайцев В.Г., 1998, Зенков Н.К., 2001).

Результаты проведенных нами исследований по изучению активности ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови позволили установить, что ведущим патогенетическим фактором деградации структур клеток различной морфофункциональной организации является

недостаточность фермента СОД и снижение уровня витамина Е уже на локальных стадиях изученной онкопатологии.

Как известно, организм человека располагает системами, ингибирующими перекисное окисление липидов уже на этапе инициации за счет ферментов, инактивирующих синтез свободных радикалов, а также глютатионпероксидазы и каталазы, разрушающих перекись водорода и гидроксиперекись липидов.

Действие ферментных антиоксидантов в целостном организме дополняется витаминами группы Е, А, К, Р, убихиноном, фосфолипазами, серусодержащими аминокислотами и другими соединениями.

В условиях нормы СОД ускоряет спонтанную дисмутацию супероксиданион радикала почти в 200 раз. Естественно, что в условиях обнаруженного нами дефицита активности СОД и уровня витамина Е возникает избыточное накопление активных форм кислорода и других вторичных свободных радикалов.

Касаясь биологической значимости, выявленной нами недостаточности антиоксидантной защиты клеток, следует отметить развитие тяжёлых метаболических последствий.

В соответствии с данными литературы, комбинация $OH^{\cdot}$ и супероксиданионрадикала вызывает изменения структур белков. В результате токсического действия активных форм кислорода окислительной модификации подвергаются более 200 белков-ферментов, в частности СОД, каталаза, липопероксидаза, гексокиназа, цитохром р-450, глютатионпероксидаза и другие. Таким образом, интенсификация липопероксидации закономерно коррелирует с распадом под влиянием активных форм кислорода, основных ферментов инактивации продуктов окислительной деградации - супероксиддисмутазы, каталазы (Янковский О.Ю. 2000).

Цитотоксические эффекты АФК приводят к модификации и разрыву нитей ДНК и соответственно к возникновению хромосомных мутаций. Высокую реактогенность в отношении ДНК проявляют радикалы ОН быстро реагирующие с дезоксирибозой и азотистыми основаниями ДНК.

Продукты липопероксидации, в частности малоновый диальдегид контролирует клеточное деление на стадии репликации ДНК (О.И Цебржинский, 1992).

Воздействия радикалов на ДНК служат промотором соматических мутаций канцерогенеза, распада митохондрий (Рябов Г.А.,1994, Скулачев В.П., 1998. Понукалина Е.В., Чеснокова Н.П., Афанасьева Г.А. и соавт.,1998)

Кроме того, установлено, что супероксид радикал и H_2O_2 в низких концентрациях стимулируют деление клетки (Cerutti PA., 1994; Скулачев В.П 1998, Ray G., Batra S., 2001, Geetha A., Karthiga S., Surendran G., Jayalakshmi G., 2001). В то же время продукты липопероксидации могут ингибировать синтез ДНК и деление клеток (Cheeseman K H, Emery S., 1988).

Значительная часть повреждений ДНК формируется под влиянием короткоживущих (в течение наносекунд, микросекунд) высокоэнергетических первичных и вторичных радикалов (Иванова И.П., Зуймач Е.А., Спиров Г.М., 2003; Topdag S., Aslaner A., Tataroglu C., Ilce Z., 2005).

Согласно данным ряда авторов, свободные радикалы могут вызывать экспрессию протоонкогенов, соответственно подавлять активность супрессирующих генов (Droge W., 2001; Gokul S., Patil V.S., 2010) и тем самым обеспечивать развитие стадий инициации, промоции и опухолевой прогрессии (Laccarino I., Hancock D., 2003; Waris G., Ahsan H., 2006; Hallwell B., 2007; Herceg Z., Hainaut P. P., 2007; Oliveira P. A., Colaco A., Chaves R., Guedes-Pinto H. et al., 2007; Шапошников А.В., Рядинская Л.А., 2010).

Следует отметить, что развитие оксидативного стресса, в ряде случаев сопровождается активацией ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови (Reyes I., 2005; Novo E., Parola M., 2008).

В настоящее время очевидно, что репрессия протоонкогенов при одновременной инактивации генов, супрессирующих пролиферацию клеток, генов апоптоза, нарушении ДНК-репарирующих ферментов происходит довольно часто в организме человека на фоне экологического прессинга, при различных стрессорных ситуациях. Однако малигнизированные клетки подвергаются постоянно элиминации при участии моноцитарно-макрофагальной системы, комплемент-зависимого и антителозависимого цитолиза, а также NK-клеток, нейтрофилов, других клеточно-опосредованных реакций с привлечением ThI, CD_8^+ Т-лимфоцитов киллеров (Моисеенко В.М., 2002; Гранов А.М, Молчанов О.Е., 2008; Жулай Г. А., Олейник Е. К., 2013; Faget J., et al, 2011).

В свою очередь интенсивность вовлечения механизмов неспецифической резистентности и специфических иммунологических механизмов защиты в процесс канцерогенеза в значительной мере зависит от гормонального и метаболического статусов, степени аутоинтоксикации организма. Процессы метастазирования малигнизированных клеток зависят в определенной степени от адгезивно-агрегационных свойств сосудистой стенки, ее проницаемости.

Изменения характера метаболических расстройств по ряду биохимических показателей периферической крови на локальных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки определили и целесообразность выяснения реактогенных сдвигов клеточного состава периферической крови, субпопуляционного состава лимфоцитов (CD_{19}^+В-лимфоцитов, CD_{16}^+, CD_3^+, CD_4^+, CD_8^+). Одновременно оценивали иммунный статус по содержанию в крови Ig G, Ig A, Ig M.

Как показали результаты проведенных исследований, формирование локальных форм аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки обнаруживало патогенетическую взаимосвязь с развитием моноцитопении, абсолютной и относительной лимфопении, снижением содержания в крови

CD_{16}^+ (NK-клеток), CD_3^+, CD_4^+ Т-лимфоцитов при отсутствии изменения уровня CD_{19}^+ В-лимфоцитов.

Начальные этапы метастазирования, проявляющиеся развитием местнораспространенных форм аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, характеризовались формированием на фоне прогрессирующего снижения содержания в крови CD_{16}^+ лимфоцитов, CD_3^+ Т-лимфоцитов за счет CD_4^+Т-хелперов и CD_8^+ Т-лимфоцитов-киллеров. Одновременно падал уровень CD_{19}^+ В-лимфоцитов и содержание в крови иммуноглобулинов класса G, A, M.

Таким образом, к недостаточности клеточного звена иммунитета, имеющей место на локальных стадиях онкопатологии, прсоединялся В-зависимый иммунодефицит.

Полученные данные свидетельствуют о важной роли недостаточности клеточных механизмов противоопухолевой защиты организма, обеспечивающих элиминацию малигнизированных клеток, в патогенезе локальных стадий заболевания.

Как известно, клетки моноцитарно-макрофагальной системы играют исключительно важную роль в процессах фагоцитоза, киллинга патогенов, презентации негидролизированной части антигенов на мембранах в комплексе с белками МНС I и МНС II. Последний этап моноцитарно-макрофагальной реакции вовлекает в иммунный ответ эфферентное звено В- и Т- систем лимфоцитов лишь при при абсолютно сбалансированном уровне CD_3^+, CD_4^+ и CD_8^+ Т-лимфоцитов (Попков В.М., Чеснокова Н.П., 2016).

Данные проведенных исследований указывают на то, что в условиях дефицита хелперной функции $CD4^+$ Т-лимфоцитов не может быть полноценной реализация эфферентного звена клеточного иммунитета, направленного на уничтожение малигнизированных клеток. Следует отметить ключевую роль NK-клеток в неспецифической элиминации малигнизированных клеток. Активность NK-клеток регулируется за счет

цитокинов IL-2, IL-15 и костимулирующих молекул (CD_{40}^{+}, CD_{70}^{+}, CD_{80}^{+}, CD_{86}^{+}), ингибирующих и активирующих рецепторы (Smyth M. et al., 2000; Smyth M. et al., 2001).

NKT-клетки несут на мембранах одновременно рецепторы натуральных киллеров (CD_{161}^{+}) и α-цепь Т-клеточного рецептора, обеспечивают антителозависимый цитолиз опухолевых клеток, как и NK-клетки, однако экспрессируют цитокины присущие Т-хелперам I и II типа, а для реализации их эффекторных функций необходимы GM-CSF и IL-12 (Taniguchi M. et al., 2003; Crowe N.Y. et al., 2005).

Выявленный нами дефицит NK-клеток на локальных и местно-распространенных стадиях заболевания свидетельствует о недостаточности фазы иммунологического надзора, обеспечиваемого в комплексе с макрофагами, гранулоцитами. (Гранов А.М, Молчанов О.Е. 2008) В то же время отсутствие изменения в крови уровня CD_{19}^{+} В-лимфоцитов и иммуноглобулинов всех классов на локальных стадиях онкопатологии, на фоне дефицита клеточного звена иммунитета, свидетельствует о том, что нарушение гуморального звена иммунных реакций не является инициирующим фактором в развитии аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Недостаточность иммунологических механизмов защиты на стадиях инициации и промоции обусловлена, как известно, слабой презентацией онкоантигенов и антигенов гистосовместимости на мембранах антигенпрезентирующих клеток. В то же время репрессия механизмов элиминации малигнизированных клеток аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки связана с увеличением содержания в микроокружении неоплазии супрессорных цитокинов TGFB, IL-10, а также регуляторных лимфоцитов (CD_{4}^{+}, CD_{25}^{+}) (Бережная, Н.М, 2009; Liyanage U.K., et al, 2002; Zou W., 2005).

Таким образом, одним из ведущих факторов прогрессирующего развития онкопатологии является иммуносупрессия. Для начальных стадий наибольшее значение имеет нарушение экспрессии антигенов МНС I и МНС II классов, костимулирующих молекул на дендритных клетках и несостоятельность антигенпрезентирующих рецепторов Т-хелперов. В соответствии с данными литературы, на поздних стадиях опухолевого процесса возникает снижение количественных и качественных показателей Т-лимфоцитов, NK- клеток, моноцитов, цитотоксических макрофагов (Антонов В.Г., Козлов В.Г., 2004). В то же время указанными авторами выдвигается концепция «метаболической иммуносупрессии», обусловленной чрезмерным освобождением провоспалительных цитокинов (IL-1 и TNFα), а также глюкокортикоидов и метаболитов жирового и углеводного обмена. Так, IL-1, проникая через гематоэнцефалический барьер, стимулирует выброс кортикотропинреализующего фактора, АКТГ и гиперпродукцию глюкокортикоидов. Последние вызывают лизис и апоптоз лимфоидной ткани, развитие вторичного иммунодефицита. Указанные концепции подтверждены в проведенных нами исследованиях цитокинового профиля крови и гормонального баланса на местнораспространенных стадиях изучаемой онкопатологии.

Развитие гормонального дисбаланса и метаболического атипизма клеток приводят к мобилизации жиров из депо, возрастанию в крови уровня низкомолекулярных жирных кислот, набуханию митохондрий, дефициту АТФ и подавлению многих энергозависимых реакций в малигнизированной клетке.

В последние годы внимание исследователей все больше акцентируется на значении нарушений не только иммунологического, но и цитокинового статусов при колоректальном раке и предраковых формах патологии (Хромова Н.В., Копнин П.Б., Копнин Б.П., 2011; Кит О.И., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А, Геворкян Ю.А. и др., 2012; Николаев А.А., Герштейн Е.С., Короткова

Е.А., и др., 2013; Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Терпугов А.Л., Максимов А.Ю. и др., 2014).

Так, исследование цитокинового состава ткани полипов толстой кишки позволило обнаружить возрастание уровня IFNα и INFγ по сравнению с таковыми показателями перифокальной зоны. При развитии полипов на фоне рака толстой кишки отмечено резкое возрастание в ткани полипа IL-1, IL-6. Уровень IL-6 возрастал и в перифокальной зоне. В ткани полипа без рака возрастал уровень IFNα и INFγ (Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Терпугов А.Л., и др., 2014).

Указанные цитокины обладают, как правило, не только онкогенным, но и антионкогенным действием.

Рядом авторов проведено изучение общего и локального субпопуляционного состава Т-, В- и NK-лимфоцитов, а также содержание в образцах ткани толстого кишечника провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1, IL-6, IL-8) и противовоспалительных цитокинов (IL-2, IL-10) при одиночном и синхронном первично-множественном раке толстой кишки (Кит О.И., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А. и др., 2012). Установлено, что содержание ряда цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1, IL-10) значительно возрастало в ткани опухоли при обоих клинических формах патологии.

Важная роль в возникновении и прогрессировании различных злокачественных опухолей отводится инсулиноподобным факторам роста (ИФР1 и ИФР2), синтезируемых в печени, а также клетками злокачественных опухолей (Николаев А.А., Герштейн Е.С., Короткова Е.А., и др., 2013).

Показано, что в клетках рака толстой кишки присутствуют все компоненты для реализации аутокринного действия ИФР1 и ИФР2 (Koda M., Reszec J., Sulkowska M. et al., 2004; Durai R., Yang W., Gupta S. et al., 2005; Davies M., Gupta S., Goldspink G., Winslet M., 2006; Fu P., Thompson J.A., Leeding K.S., Bach L.A., 2007; Vrieling A., Voskuil D.W., Bosma A. et al., 2009; Sztefko K., Hodorowicz-Zaniewska D., Popiela T., Richter P., 2009; Yavari K.,

Taghikhani M., Maragheh M.G. et al., 2009). При этом установлено и возрастание уровня ИФР1 в сыворотке крови больных колоректальным раком. Чувствительность ИФР1 как потенциального диагностического маркера КРР по данным авторов составляет 80 %.

Как известно, семейство ИФР стимулируют пролиферативную, инвазивную и ангиогенную активность опухолевых клеток. Высокий уровень ИФР1 относится к факторам повышенного риска развития КРР (Nomura A.M., Stemmermann G.N., Lee J., Pollak M.N., 2003; Rinaldi S., Cleveland R., Norat T. et al., 2010).

Обращает на себя внимание факт отсутствия систематизированных данных относительно закономерностей изменений цитокинового профиля крови в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

В целях выявления объективных критериев системного действия аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки на организм проведено исследование содержания в крови IL-1, IL-6, TNFα, GCSF.

Как известно, цитокины – это белково-пептидные факторы, продуцируемые преимущественно клетками моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем, микроокружением неоплазии и малигнизированными клетками, обладающими не только местным, но и системным плейотропным эффектами (Бережная, Н.М., 2009; Попков В.М., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., 2014; Попков В.М., Чеснокова Н.П., Захарова Н.Б., 2016). Последние направлены на обеспечение межклеточного взаимодействия, формирование защитно-приспособительных реакций за счёт вовлечения В- и Т-систем лимфоцитов, фагоцитов в процессе инактивации патогенов, в частности, малигнизированных клеток, а также на мобилизацию гормонов адаптации в реакциях неспецифической противоопухолевой защиты. (Фрейдлин И.С., 2001; Кадагидзе, 2003; Кетлинский С.А, 2008), а также нервной системы.

Измененя баланса цитокинов не определяют специфику онкоантигенов, но динамика их содержания в крови позволяет судить об интенсивности антигенной стимуляции цитокин-продуцирующих клеток, развитии рецидива онкопатогии или ремиссии, дать оценку эффективности терапии того или иного заболевания.

Как оказалось, уже на локальных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки возникало возрастание уровня в крови IL-1, TNFα, GCSF.

Касаясь биологической значимости обнаруженного нами возрастания уровня IL-1 в крови, следует отметить, что указанный цитокин обладает способностью активизировать Т-клеточный ответ на антигены, усиливает пролиферацию CD_4^+ лимфоцитов, рост и дифференцировку В-клеток, индуцирует продукцию IL-2 и колониестимулирующих факторов, активирует процессы гемопоэза на уровне стволовых клеток (Кадагидзе, З.Г, 2003; Симбирцев, А.С., 2004). Таким образом, IL-1 обеспечивает мобилизацию специфических иммунных механизмов защиты и механизмов неспецифической резистентности организма против малигнизированных клеток. Однако биологческие эффекты IL-1 крайне противоречивы. Установлено, что указанный цитокин обладает протоонкогенным действием за счет подавления экспрессии на малигнизированных клетках -MHC II и тем самым препятствует развитию феномена «двойного» распознавания малигнизированных клеток CD_4^+ Т-хелперами.

Как указано выше, при развитии начальных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки возникало и усиление индуцибельного синтеза TNF-α. В то же время уровень IL6 не отличался от показателей группы контроля, а содержание колониестимулирующего фактора (GCSF) значительно увеличивалось.

В соответствии с изученной нами литературой возрастание уровня GCSF, безусловно, имеет защитно-приспособительный характер, обеспечивая

усиление лейкопоэза и соответственно фагоцитарную активность лейкоцитов (Телетаева, Г.М., 2007). Относительно выявленного нами возрастания уровня TNF-α в крови, следует отметить, что фактор некроза опухоли альфа – это группа цитокинов, объединённых в семейство фактора некроза опухоли, обладающих способностью усиливать продукцию IL-1, IL-6, а также аутокринно - стимулировать продукцию TNF-α и активировать антителообразование В-лимфоцитами. В то же время TNF-α-обладает высокой цитотоксичностью, вызывая геморрагический некроз опухоли. Избыточная продукция TNFα подавляет костномозговое кроветворение, приводит к развитию анемии, лимфопении, развитию дисбаланса иммуноцитов (Антонов В.Г., Козлов В.Г., 2004). Закономерности развития иммуносупрессии при неоплазиях различной локализации, в частности, при раке прямой кишки, молочной и щитовидной железы нашли отражение в ряде работ отечественных авторов (Попков В.М, Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю., 2011)

Одним из тяжелых осложнений онкологических заболеваний является развитие ДВС-синдрома, характеризующегося фазными изменениями коагуляционного и тромбоцитарно-сосудистого звеньев систем гемостаза и фибринолиза а также соответствующими нарушениями микрогемодинамики, регионарного кровотока, оксигенации и трофики различных органов и тканей.

Формирование расстройств коагуляционного потенциала крови в виде ДВС- синдрома при различных формах онкопатологии является результатом воздействия различных патогенетических факторов, приводящих, в частности, к нарушению структуры и функции сосудистой стенки, развитию перифокальной воспалительной реакции с освобождением вазоактивных медиаторов альтерации, усиленному освобождению цитокинов клетками микроокружения неоплазии, обладающих местными и системными полимодальными эффектами, в том числе и гемостатическими реакциями.

В то же время малигнизированные клетки являются источниками различных цитокинов и других биологически-активных веществ, влияющих на синтез различных тканевых и плазменных факторов свёртывания крови.

Установлено, что в процессе онкогенной трансформации клеток различной морфофункциональной организации происходит активация протоонкогенов, обеспечивающих детерминацию факторов роста, их рецепторов или пострецепторных передатчиков, а также блокаторов контактного ингибирования пролиферации. Часть протоонкогенов обеспечивает кодирование блокаторов запрограммированной гибели клеток (Ривкин В.Л., Бронштейн А.С., Фаин С.И., 2001; Парфенов А.И., Осипов Г.А., Ручкина И.Н., 2003; Поддубный Б.К., и др., 2006; Рахимова О.Ю., Александров В.Б., 2008).

Общие закономерности канцерогенеза находят отражение в молекулярно-клеточных механизмах развития рака толстой кишки (РТК). Так, у 45-50% больных РТК установлено развитие мутаций генов K-ras и N-ras, кодирующих белки-рецепторы различных факторов роста, что приводит к расстройству трансдукционных сигналов с клеточной мембраны в ядро клетки. В развитии РТК важная роль отводится мутации супрессирующего гена p-53, что приводит к потере контроля над процессами пролиферации. В большинстве первичных опухолей РТК (84,5%) выявлена первичная экспрессия В-катенина, что коррелирует с внутрисосудистой инвазией и малигнизированными клетками (Барсуков Ю.А., Черкес В.Л., Алиев В.А., 2008).

Установлено, что инвазия опухолевых клеток при злокачественных новообразованиях толстой кишки в значительной мере определяется активностью матриксных металлопротеиназ (MMP-2 и MMP-9), обеспечивающих разрушение внеклеточного матрикса и клеточных базальных мембран.

В связи с вышеизложенным очевидно, что одним из ведущих патогенетических факторов опухолевой прогрессии, приводящих к появлению инвазивных свойств у малигнизированных клеток и развитию метастазирования, является нарушение структуры и функций сосудистой стенки, как в местах первичного формирования опухоли, так и в отдаленных структурах. Указанная точка зрения находит аргументацию в одном из клинических проявлений различных онкологических заболеваний - синдроме Труссо. Последний, как известно, характеризуется индукцией тромбогенных свойств эндотелием и ослаблением тромборезистентности сосудов при онкологических заболеваниях (Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П., 1999).

До настоящего момента оставались в значительной мере неизученными закономерности системных паранеопластических расстройств при РТК, в частности роль эндотелиальной дисфункции и связанных с ней нарушений коагуляционного потенциала крови в развитии процессов метастазирования опухолевых клеток. Между тем, установление патогенетической взаимосвязи развития эндотелиальной дисфункции и расстройств коагуляционного потенциала крови в динамике аденокарциномы ободочной кишки позволит в значительной мере расширить диапазон прогностических и диагностических критериев метастазирования опухолевого процесса. Для частичного решения указанной проблемы была проведена сравнительная оценка показателей коагуляционного потенциала крови и эндотелиальной дисфункции у пациентов с локальными и местнораспространенными стадиями аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Как оказалось, развитие гиперкоагуляционных сдвигов у больных раком восходящего отдела ободочной кишки на локальных стадиях (T1–2N0M0) сочеталось с увеличением содержания в крови адгезивных молекул (P, E-селектинов, SICAM).

Развитие метастазирования опухолевых клеток при местно-распространенных (T3–4(а,в)N1-2M0) стадиях аденокарциномы восходящего

отдела ободочной кишки формировалось на фоне прогрессирования эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствовало дальнейшее возрастание уровня P, E-селектинов, SICAM в крови, обнаруживающей параллелизм с гипокоагуляционными сдвигами.

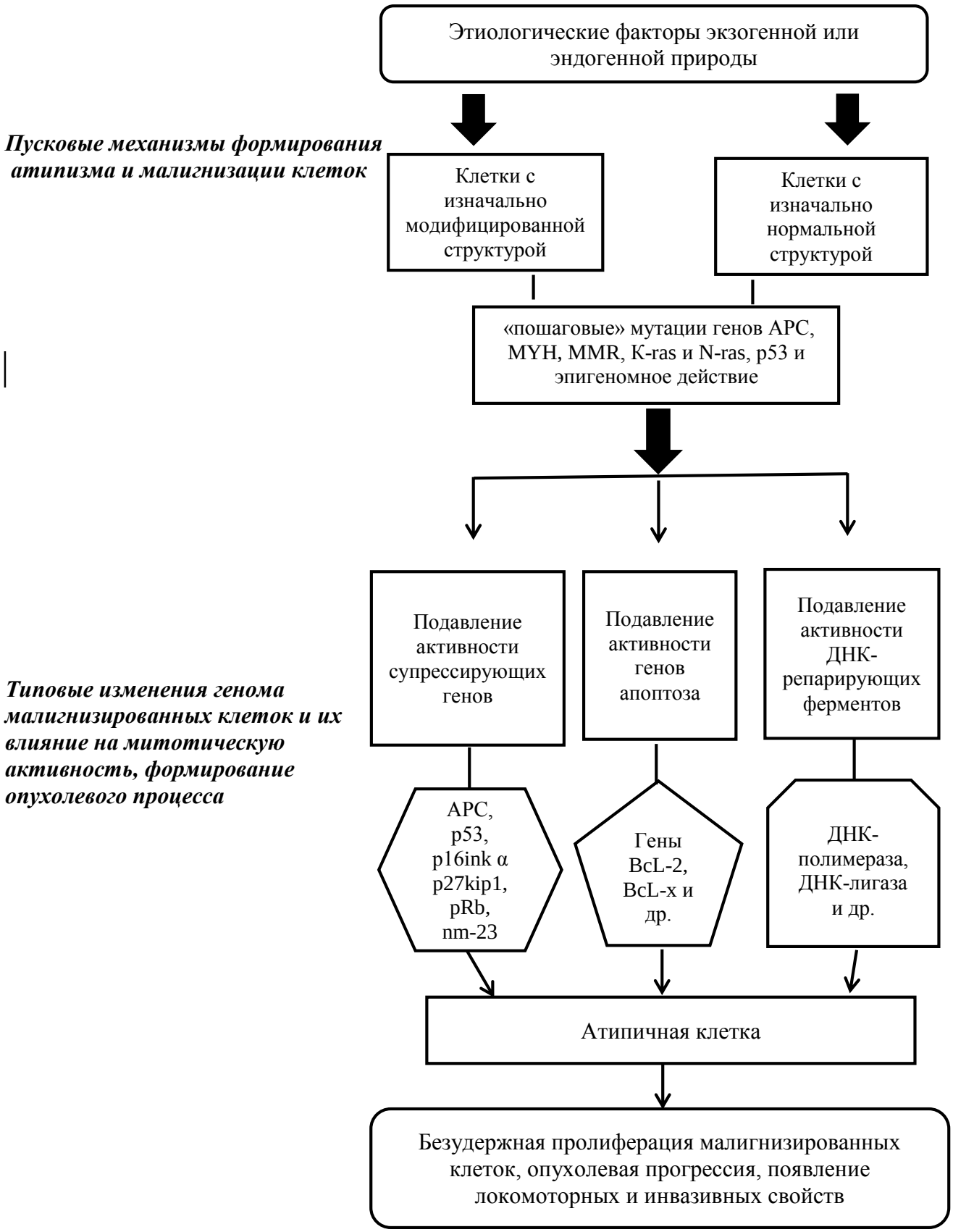
Результаты собственных исследований позволили установить новые критерии системного действия опухоли на организм на локальных (T1–2N0M0) и метнораспространенных стадиях (T3–4(а,в)N1-2M0) аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки. Последние могут быть использованы в качестве дополнительных методов оценки развития метастазирования малигнизированных клеток, общесоматического статуса пациентов, эффективности комплексной терапии заболевания в соответствии с мониторингом показателей клеточного состава крови, иммунного, цитокинового, метаболического статусов и гормонального дисбаланса крови.

На основе анализа данных литературы и результатов собственных исследований впервые разработана оригинальная схема патогенеза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки, в которой тесно взаимосвязаны инициирующие онкогенетические механизмы развития заболевания с формированием системного действия опухоли на организм (табл.14).

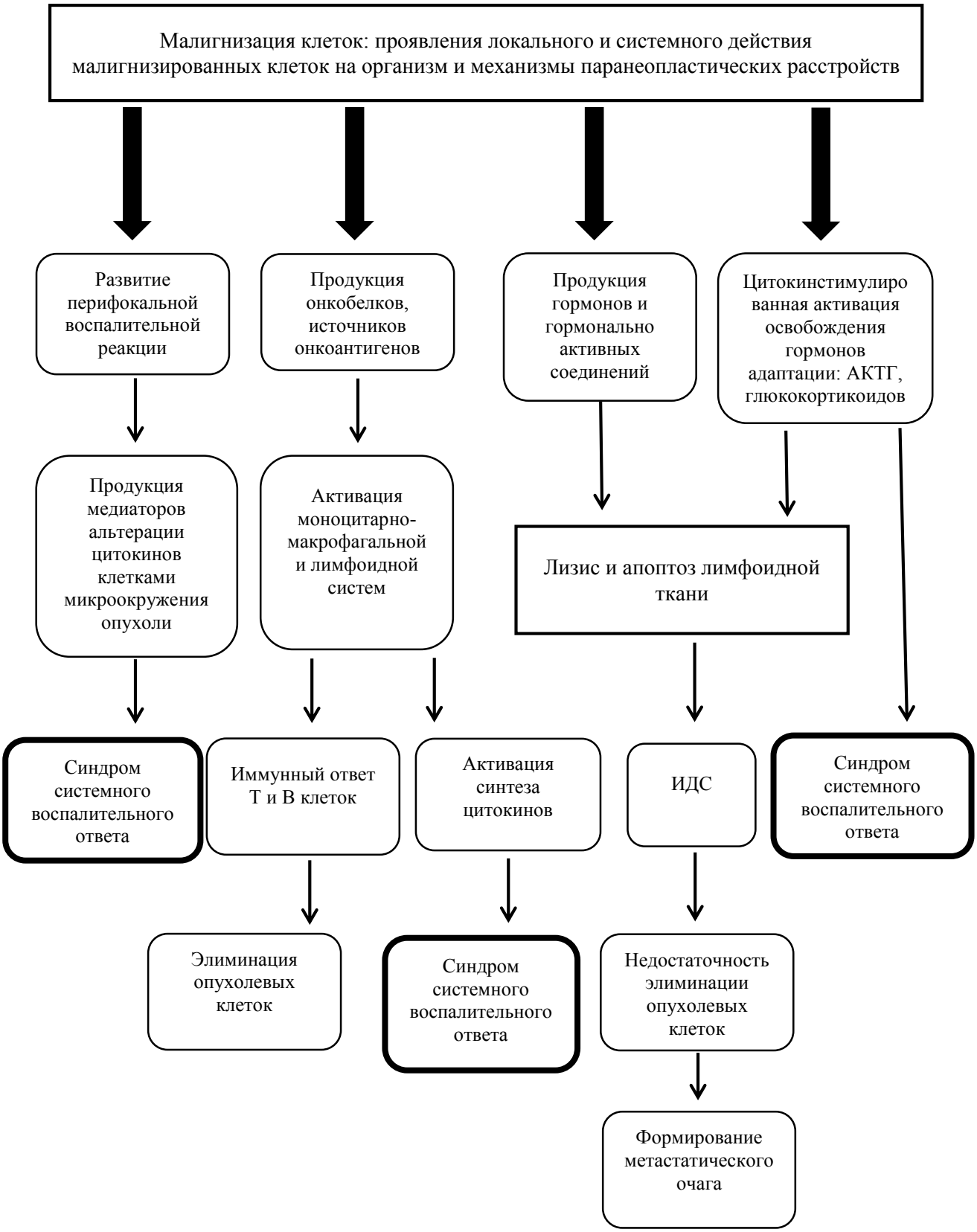
Таблица 14

Схема патогенеза развития аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

I Механизмы развития стадий малигнизации и промоции



II Патогенез паранеопластических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки



Алгоритм диагностики системных метаболических и функциональных паранеопластических расстройств, сопутствующих развитию локальных (T1–2N0M0) и местнораспространенных (T3–4(а,в)N1-2Mo) стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки

Традиционные методы диагностики онкопатологии толстой кишки, аналитическая оценка их чувствительности и объективности представлены в обзоре литературы (1.5.1).

Задачами данного исследования явилось у

становление механизмов метастазирования малигнизированных клеток при переходе локальных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки в местнораспространенные формы, а также выявление патогенетической взаимосвязи между стадиями распространения опухолевого процесса и характером системного действия опухоли на организм.

Полученные в диссертационной работе данные нашли отражение в предложенном нами алгоритме диагностики паранеопластических расстройств в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки (табл. 15).

Таблица 15

Перечень диагностических критериев сиситемных паранеопластических расстройств и их изменений в динамике распространения аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки.

Исследуемые показатели	**Показатели нормы** **I**	**Локальнае стадии заболевания** **II**	**Местно-распространенные стадии заболевания** **III**
Клеточный состав периферической крови			
Общее число лейкоцитов ($*10^9$/л)	6,6±0,34	Отсутствие изменений показателя	**Лейкоцитоз ●**
Абсолютное число лимфоцитов ($*10^9$/л)	2,2±0,09	**Лимфопения ♦**	**Лимфопения ●**
Содержание палочкоядерных лейкоцитов (%)	2,3±0,06	Увеличение показателя	**Сдвиг лейкоцитарной формулы влево ●**
Содержание сегментоядерных лейкоцитов (%)	51,7±2,48	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
Соотношение. моноцитов (%)	5,6±0,17	**Моноцитопения ♦**	**Моноцитопения ●**
Содержание эозинофилов (%)	3,1±0,08	Отсутствие изменений показателя	**Эозинофилия ●**
Содержание лимфоцитов (%)	30,1±1,31	Отсутствие изменений показателя	**Лимфопения ●**
Тромбоциты ($*10^9$ /л)	257,6±11,31	Отсутствие изменений показателя	**Тромбоцитопения ●**
Эритроциты ($*10^{12}$/л)	4,4±0,08	**Уменьшение показателя ♦**	**Уменьшение показателя ●**
Гемоглобин (г/л)	130,3±6,21	**Уменьшение показателя♦**	**Уменьшение показателя ●**
СОЭ (мм/ч)	9,3±0,21	**Ускорение СОЭ ♦**	**Ускорение СОЭ ●**

♦ - достоверные изменения показателей по отношению к таковым показателям группы контроля
● - достоверные изменения показателей по отношению к таковым показателям группы пациентов с локальными стадиями изучаемой онкопатологии

Показатели биохимического спектра крови			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
Глюкоза крови (ммоль/л)	4,9±0,21	**Гипогликемия ♦**	**Гипогликемия ●**
Мочевина (ммоль/л)	6,4±0,29	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
Общий билирубин (мкмоль/л)	13,2±0,64	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
Кальций (Ca^+) (ммоль/л)	2,43±0,118	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
Натрий (Na^+) (ммоль/л)	141,3±7,04	Отсутствие изменений показателя	**Гипонатриемия ●**
Калий (K^+) (ммоль/л)	4,2±0,19	Отсутствие изменений показателя	**Гипокалиемия ●**
Протеины (г/л)	79,4±3,91	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
Альбумины (г/л)	45,5±2,27	Отсутствие изменений показателя	**Гипоальбуминемия●**
Глобулины (г/л)	33,9±1,67	Отсутствие изменений показателя	**Гиперглобулинемия●**
С-реактивный белок	3,7±0,16	**Увеличение показателя ♦**	**Увеличение показателя ●**

Показатели содержания в крови промежуточных продуктов перекисного окисления липидов и аутоинтоксикации			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
ПРЭ (% гемолиз.эр.)	1,45±0,032	Увеличение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
МДА в крови (нмоль/мл)	3,1±0,04	Увеличение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
ДК в крови (ед/мл)	1,48±0,031	Увеличение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
МСМ (ед.опт.пл.)	0,21±0,007	Увеличение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**

Показатели состояния активности антирадикальной защиты клеток			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
СОД в цельной крови (Ед/мл)	418,3±20,57	Снижение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
Витамин Е в сыворотке крови (Ед.опт.плотности)	22,4±1,09	Снижение показателя	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
Каталаза эритроцитов (мк Е /1л эр.)	5,12±0,149	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя

Показатели содержания в крови отдельных субпопуляций лимфоцитов			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
CD3 (%)	62,8±3,03	**Снижение показателя ♦**	**Снижение показателя ●**
CD4 (%)	41,4±1,88	**Снижение показателя ♦**	**Прогрессирующее снижение показателя ●**
CD8 (%)	21,4±0,71	Отсутствие изменений показателя	**Снижение показателя ●**
CD4/CD8	1,93±0,061	**Снижение показателя ♦**	**Прогрессирующее снижение показателя ●**
CD16 (%)	16,8±0,41	Снижение показателя	**Прогрессирующее снижение показателя ●**
Показатели уровня иммуноглобулинов и CD19-В-лимфоцитов в крови			
IgG (г/л)	14,43±0,58	Отсутствие изменений показателя	Отсутствие изменений показателя
IgA (г/л)	3,32±0,064	Отсутствие изменений показателя	**Снижение показателя ●**
IgM (г/л)	1,81±0,084	Отсутствие изменений показателя	**Снижение показателя ●**
CD19 (%)	21,2±0,86	Отсутствие изменений показателя	**Снижение показателя ●**

Показатели содержания в крови цитокинов			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
Il-1 (пг/мл)	17,2±0,73	**Увеличение показателя ♦**	**Увеличение показателя ●**
Il -6 (пг/мл)	5,1±0,14	Отсутствие изменений показателя	**Увеличение показателя**
TNF-α (пг/мл)	10,6±0,41	**Увеличение показателя ♦**	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
GCSF (пг/мл)	3,6±0,06	**Увеличение показателя ♦**	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**

Показатели содержания в крови АКТГ, кортизола и СТГ			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
Кортизол	323,5±29,3	Увеличение показателя	**Увеличение показателя ●**
АКТГ	37,7±2,6	Снижение показателя	**Прогрессирующее снижение показателя ●**
СТГ	5,3±0,28	Увеличение показателя	Прогрессирующее увеличение показателя

Уровень содержания в крови Е-Р селектинов, SICAM			
Исследуемые показатели	**I**	**II**	**III**
Р-селектин 36-262 (нг/мл)	203,4±7,97	Отсутствие изменений показателя	**Увеличение показателя ●**
Е-селектин 1-75 (нг/мл)	41,9±1,9	**Увеличение показателя ♦**	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**
SICAM 130-400 (нг/мл)	316,8±4,3	**Увеличение показателя ♦**	**Прогрессирующее увеличение показателя ●**

♦ - достоверные изменения показателей по отношению к таковым показателям группы контроля

● - достоверные изменения показателей по отношению к таковым показателям группы пациентов с локальными стадиями изучаемой онкопатологии

ВЫВОДЫ

1. Развитие локальных и местнораспространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки закономерно сочетается с паранеопластическими расстройствами метаболического статуса, обнаруживающими параллелизм со стадиями распространения неоплазии. Наиболее ранними признаками развития системного действия аденокарциномы на организм на локальных стадиях заболевания являются гипогликемия, возрастание уровня острофазных белков – С-реактивного белка, фибриногена. На местнорапространённых стадиях заболевания имеют место диспротеинемия, снижение содержания в крови калия и натрия на фоне прогрессирующей гипогликемии и возрастания содержания в крови острофазных белков.

2. Активация свободно-радикальной дестабилизации биомембран обнаруживает параллелизм с усилением процессов аутоинтоксикации уже на локальных стадиях развития аденокарциномы ободочной кишки, носит прогрессирующий характер по мере распространения неоплазии, на что указывает динамика возрастания содержания в крови промежуточных продуктов липопероксидации и молекул средних масс. Ведущим патогенетическим фактором активации процессов перекисного окисления липидов, обуславливающим нарушение стабильности биологических мембран, энергообеспечения клеток, их возбудимости, а также процессов межклеточного взаимодействия, является недостаточность ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови.

3. Развитие онкогенно-опасной стрессорной ситуации в процессе малигнизации клеток и их активации на локальных стадиях аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки закономерно сопровождается усилением выброса гормонов – АКТГ и глюкокортикоидов, обладающих не только способностью активировать системные реакции адаптации, но и вызывать выраженные метаболические расстройства, развивать

протоонкогенные эффекты за счет лизиса и апоптоза лимфоидной ткани, нарушения элиминации малигнизированных клеток. Ростстимулирующее действие возрастающего в крови уровня СТГ проявляется лишь на местно-распространенных стадиях онкопатологии.

4. Реактогенные изменения клеточного состава периферической крови, уже на локальных стадиях неоплазии в виде лимфо- и моноцитопении, свидетельствуют о недостаточности иммунологических механизмов защиты, обеспечивающих элиминацию малигнизированных клеток. Объективными критериями развития паранеопластических расстройств на локальных стадиях аденокарциномы ободочной кишки являются анемия, а также ускорение СОЭ. Местнораспространенные стадии опухолевого процесса характеризуются развитием анемии и тромбоцитопении, нейтрофильного лейкоцитоза со сдвигом влево, эозинофилией, прогрессирующей лимфопенией и моноцитопенией.

5. Наиболее ранними признаками недостаточности специфических иммунологических механизмов защиты против малигнизированных клеток на локальных стадиях аденокарциномы ободочной кишки являются абсолютная и относительная лимфопения, дефицит субпопуляции CD_{16}^{+} натуральных киллеров, а также снижение уровня CD_3^{+}, CD_4^{+} Т-лимфоцитов.

Развитие местнораспространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки возникает на фоне выраженной недостаточности не только клеточного, но и гуморального звеньев иммунитета, на что указывают снижение уровня CD_{19}^{+} В-лимфоцитов и содержания Ig G, A, M в крови.

6. Установлена динамика изменений цитокинового профиля крови на локальных и местно-распространнных стадиях опухолевого процесса в виде возрастания уровня провоспалительных цитокинов (IL-1, TNFα), а также GCSF на локальных стадиях заболевания, а в сочетании с усилением экспрессии IL-6 и на местнораспространённых стадиях аденокарциномы

восходящего отдела ободочной кишки. Возрастание содержания в крови указанных цитокинов носит, безусловно, неспецифический индуцибельный характер, возникает за счет стимуляции моноцитарно-макрофагальной и лимфоидной систем, а также клеток микроокружения неоплазии. В то же время, динамика изменений цитокинового профиля крови возволяет дать оценку эффективности комплексной терапии, а также состояния регрессии или прогрессии злокачественного опухолевого процесса.

7. В динамике формирования и распространения неоплазии возникали фазные изменения коагуляционного гемостаза на фоне развития эндотелиальной дисфункции в виде прогрессирующего возрастания содержания в крови Р-селектинов, Е-селектинов, а также молекул клеточной адгезии (SICAM), обнаруживающего параллелизм со стадией распространения опухолевого процесса.

8. Ведущим патогенетическим фактором развития локальных и местно-распространенных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки является недостаточность клеточного, а затем и гуморального звеньев иммунитета, не обеспечивающих адекватную элиминацию опухолевых клеток. Последнее определяет необходимость в диагностических и прогностических целях мониторинга показателей клеточного состава периферической крови, субпопуляционного состава лимфоцитов, а также уровня Ig G, A, M в крови.

Показатели метаболического статуса являются типичными признаками синдрома системного воспалительного ответа на действие неоантигенов и цитокинов малигнизированных клеток и соответственно могут быть использованы для оценки общесоматического статуса, а также оптимизации принципов комплексной терапии больных с аденокарциномой восходящего отдела ободочной кишки.

Практические рекомендации

Комплексное клинико-лабораторное обследование пациентов с локальными и местнораспространенными стадиями аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки позволило впервые установить закономерности системных паранеопластических расстройств на указанных стадиях распространения неоплазии, что, безусловно, чрезвычайно важно для врачей хирургов-онкологов.

Это обусловлено тем фактом, что онкопатология толстого кишечника не проявляется специфическими патогномоничными симптомами, а зачастую манифестирует как заболевание кишечника воспалительной или инфекционно-аллергической природы, что определяет позднее обращение пациентов к врачам-онкологам.

В настоящее время очевидна концепция, согластно которой метастазирование опухолевых клеток осуществляется не только лимфогенным, но и гематогенным путем в связи с наличием большого количества анастомозов между кровеносными и лимфатческими сосудами. В связи с этим диагностика начальных стадий распространения неоплазии, основывающаяся лишь на TNM классификации, в ряде случаев (при наличии клинически не манифестирующих местных и отдаленных метастазов), может оказаться несостоятельной.

Между тем, оценка системного действия опухоли на организм может проводиться как до оперативного вмешательства, так и на фоне комплексной терапии заболевания. Последнее позволит дать объективную оценку эффективности лечения патологии и сформулировать прогностические критерии развития онкопатологии в ближайшие сроки.

Останавливаясь на конкретных рекомендациях врачам-лаборантам в оценке ряда клинико-лабораторных показателей необходимо акцентировать внимание на следующих особенностях динамики показателей клеточного

состава периферической крови, её коагуляционного потенциала, метаболического, иммунного и цитокинового статуса.

Так, при постановке диагноза аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки с использованием традиционных методов диагностики заболевания выявление относительной и абсолютной лимфопении, моноцитопении, анемии, ускорение СОЭ, сочетающихся при последующем мониторинге показателей с нейтрофильным лейкоцитозом, эозинофилией, тромбоцитопенией свидетельствуют о прогрессирующем течении заболевания.

1. При оценке иммунного статуса следует обратить внимание на динамику изменений субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов крови. Так, развитие локальных стадий аденокарциномы восходящего отдела ободочной кишки происходит на фоне недостаточности клеточного звена иммунитета (моноцитопении, снижения уровня CD_{16}^{+} лимфоцитов, CD_3^{+} и CD_4^{+} Т-лимфоцитов). По мере развития опухолевого процесса к указанным нарушениям субпопуляционного состава лимфоцитов присоединяются падение уровня CD_8^{+} Т-лимфоцитов, CD_{19}^{+} В-лимфоцитов и недостаточность гуморального звена иммунитета - дефицита Ig G, Ig M, Ig A.

2. Расстройства метаболического статуса возникают уже на локальных стадиях аденокарциномы и прогрессируют на фоне развития местно-распространенных стадий заболевания в виде гипогликемии, усиления синтеза острофазного белка, диспротеинемии, увеличения содержания в крови МСМ, ДК, МДА, недостаточности витамина Е и снижения активности СОД.

3. Признаками системного действия аденокарциномы на организм являются развитие эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствует прогрессирующее возрастание содержания в крови адгезивных молекул, обнаруживающих параллелизм с фазными нарушениями коагуляционного потенциала крови.

4. Дополнительные диагностические критерии, а также показатели эффективности комплексной терапии заболевания могут быть выявлены при мониторинге цитокинового профиля крови. Прогрессирующее возрастание уровня провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNFα), а также GCSF являются прогностически неблагоприятным фактором.

Список использованных сокращений

РТК – рак толслой кишки

ИЛ - интерлейкин

ККР – колоректальный рак

ДК - диеновые коньюгаты

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ГКСФ - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

КТ - компьютерная томография

МДА - малоновый диальдегид

МСМ - молекулы средних масс

ПРЭ - перекисная резистентность эритроцитов

СОД - супероксиддисмутаза

СОЭ - скорость оседания эритроцитов

УЗИ - ультразвуковое исследование

ФНО-α - фактор некроза опухоли альфа

NK - клетки - натуральные киллеры

NO - оксид азота

МНО- международное нормализованное отношение

АЧТВ-тест- активированное частичное тромбопластиновое время

Список используемой литературы

1. Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л. На пути к пониманию природы рака. Обзор // Биохимия. – 2008. – Т. 73, № 5. – С. 605–618.

2. Абу Шарах Имад, Чеснокова Н.П., Салов И.А. О значении активации липопероксидации в патогенезе опухолевого поражения матки / // Практикующий врач: тез. докл. междунар. конгр. – Дагомыс, 2002. – С. 3.

3. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии: коллективная монография / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов: Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 2012. – 366 с.

4. Активация процессов липопероксидации – типовой процесс дестабилизации биомембран клеток при неоплазиях различной локализации / А.А. Свистунов, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 267–270.

5. Александров В.Б. Рак прямой кишки. – М., 2006.

6. Анализ инфекционных концепций канцерогенеза / И.В. Рева, Т. Ямамото, Г.В. Рева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 2. – С. 194–207.

7. Антонов, В.Г. Патогенез онкологических заболеваний. Цитоплазматические и молекулярно-генетические механизмы иммунной резистентности малигнизированных клеток / В.Г. Антонов В.К. Козлов // Цитокины и воспаление. - 2004. - Т.3. - № 2. - С. 23-33.

8. Апоптоз в канцерогенезе / Г.В. Рева, Т. Ямамото, В.Е. Толмачёв, А.Р. Ким, О.Б. Калинин, И.О. Калинин, А.Ю. Фисенко, Н.В. Грахова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 2. – С. 103–110.

9. Барсуков В.Ю. Патогенез паранеопластических расстройств при раке молочной железы и патогенетическое обоснование принципов их

медикаментозной коррекции: автореф. дис. … д-ра мед. наук. – Саратов, 2008. – 44 с.

10. Барсуков В.Ю., Плохов В.Н., Чеснокова Н.П. Активация липопероксидации как типовой процесс дезинтеграции клеток в зоне неоплазии при раке молочной железы // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – № 3 (23). – С. 3–6.

11. Барсуков В.Ю., Селезнева Т.Д. Иммунологические сдвиги у больных с отечно-инфильтративным раком молочной железы // Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы: мат. III Междунар. ежегодной конф. «Белые ночи». – СПб., 2006. – С. 55.

12. Барсуков Ю.А., Черкес В.Л., Алиев В.А. Значение молекулярно-биологических маркеров рака толстой кишки для диагностики, выбора метода лечения и прогноза // Вестник Московского онкологического общества. – 2008. – № 10. – С. 2–7.

13. Белицкий Г.А. Прогноз канцерогенности фармакологических средств и воспомогательных веществ в краткосрочных тестах // Ведомости фармкомитета. – 1999. – № 1. – С. 18–31.

14. Белоусова Е.А. Воспалительные заболевания толстой кишки как предраковые заболевания // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2002. – Т. 12, № 4. – С. 56–62.

15. Белялова К.С., Белялов Ф.И. Факторы риска и профилактика рака различных локализаций (часть 1) // Клин. мед. – 2005. – № 11. – С. 17–21.

16. Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения // Онкология. – Т. 11, № 2. – 2009. – С. 86–93.

17. Берштейн Л.М. Гормональный канцерогенез. – СПб.: Наука, 2000. – 199 с.

18. Бурцев Д.В., Кит О.И., Максмов А.Ю. Эффективность и оптимизация эпигенетических методов при молекулярном скрининге рака толстой кишки // Практическая медицина. – 2012. – № 6. – С. 90–93.

19. Бурцев Д.В., Кит О.И., Максимов А.Ю. Эффективность молекулярного скрининга рака толстой кишки // Московский хирургический журнал. – 2012. – № 3. – С. 43–46.

20. Вермелъ А.Е. Фармакологические возможности профилактики колоректального рака // Клин. мед. – 2004. – № 11. – С. 39–44.

21. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – № 12. – С. 13–19.

22. Внеклеточные нуклеиновые кислоты как маркеры опухолевого роста / В.Н. Кондратова, И.В. Ботезату, В.П. Шелепов, А.В. Лихтенштейн // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 3–10.

23. Воробьев А.В. Общие вопросы скрининга // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 53–59.

24. Габриэлян, Н.И. Метод определения витамина Е в сыворотке крови / Н.И. Габриэлян, Э.Г. Левицкий, О.И. Щербанова // Тер.архив. - 1983. - №6. - С.76-78.

25. Гранов А.М., Молчанов О.Е. Канцерогенез и иммунобиология опухоли. Фундаментальные и клинические аспекты // Вопросы онкологии. – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 401–409.

26. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2005 г. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2007. № 18. – С. 52–53.

27. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. - М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. - 226 с.

28. Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е. Молекулярно-биологические маркеры и их прогностическая значимость при раке толстой кишки // Вестник Московского онкологического общества. – 2008. – № 10. – С. 2–7.

29. Дзасохов А.С. Патогенетические аспекты опухолевого роста в свете тканевой теории канцерогенеза (краткий литературный обзор) // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т.XIX, № 2. – С. 179–181.

30. Егоренков В.В., Моисеенко Ф.В. Скрининг рака толстой кишки // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 81–87.

31. Егоров Е.Е. Теломераза и канцерогенез // Клиническая онкогематология / под ред. М.А. Волковой. – М.: Медицина, 2007. – С. 126–140.

32. Егоров Е.Е. Теломеры, теломераза, канцерогенез и мера здоровья // Клиническая онкогематология. – 2010. – Т. 3, № 2. – С. 184–197.

33. Жулай Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-клетки и канцерогенез // Иммунология. – 2013. – № 1. – С. 61–64.

34. Зайцев В.Г. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградской медицинской академии. – 1998. – Вып. 4. – С. 49–53.

35. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы обшей патологии. Часть 1. Основы обшей патофизиологии: учеб. пособие для студентов медвузов. – СПб.: ЭЛБИ, 1999. – 624 с.

36. Закономерности изменений иммунного и цитокинового статусов при фолликулярной форме рака щитовидной железы в динамике распространения неоплазии / В.Н. Плохов, Е.В. Зяблов, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков // Вестник ВолГМУ. – 2011. – № 1 (37). – С. 97–100.

37. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты – М.: Наука, 2001. – 343 с.

38. Злобнова О.А. Динамические изменения показателей цитокинового профиля периферической крови при раке молочной железы в динамике распространения опухолевого процесса // Актуальные вопросы современной

медицины: мат. Междунар. заоч. науч.-практ. конференции. – Новосибирск: СибАк, 2013. – С. 58–63.

39. Злобнова О.А., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю. Особенности нарушений цитокинового статуса на ранних стадиях развития рака молочной железы, патогенетическое обоснование возможности их медикаментозной коррекции // Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития: мат. VII международной науч.-практ. конференции. – М.: Спутник+, 2013. – С. 44–48.

40. Злобнова О.А., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю. Оценка состояния иммунологических механизмов защиты при раке молочной железы у больных репродуктивного возраста в динамике распространения опухолевого процесса / // Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития: мат. I Междунар. науч.-практ. конференции: сб. науч. трудов. – Краснодар, 2013. – С. 56–58.

41. Злобнова О.А., Чеснокова Н.П., Барсуков В.Ю. Прогностическое значение динамических изменений цитокинового профиля крови при узловой форме рака молочной железы // Злокачественные опухоли: мат. XVI Рос. онкологического конгресса. – М., 2012. – Т. 2, № 2. – С. 131–132.

42. Зяблов Е.В., Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П. Закономерности активации свободнорадикального окисления и изменений показателей клеточного состава периферической крови при фолликулярной форме рака щитовидной железы // Медицина, ветеринария и фармацевтика: сб. науч. тр. по материалам международной науч.-практ. конференции «Современные представления о теоретических и прикладных исследованиях 2010». – Т. 31. – Одесса: Черноморье, 2010. – С. 86–88.

43. Зяблов Е.В., Барсуков В.Ю., Чеснокова Н.П. Сравнительная оценка состава лимфоцитов периферической крови при фолликулярной форме рака щитовидной железы с различной степенью распространения опухолевого процесса // Вопросы патогенеза типовых патологических процессов: труды

II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Новосибирск, 2010. – С. 129–132.

44. Зяблов Е.В. Закономерности изменений цитокинового статуса у больных с фолликулярной и папиллярной формами рака щитовидной железы в динамике распространения неоплазии / Е.В. Зяблов, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков // Фундаментальные исследования. – № 5. – 2011. – С. 62–67.

45. Зяблов Е.В. Особенности клеточного состава периферической крови при папиллярной и фолликулярной формах рака щитовидной железы // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 8. – С. 14–18.

46. Зяблов Е.В. Роль центрогенных и иммунных механизмов в нарушениях гормонопродуцирующей функции щитовидной железы при папиллярной форме рака щитовидной железы // Мат. 69-й науч.-практ. конф. молодых ученых. – Саратов: Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 2009. – С. 45.

47. Иванова И.П., Зуймач Е.А., Спиров Г.М. Опухолевые процессы и высокоэнергетические импульсные факторы // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 81–85.

48. Изменения процессов биологического окисления, липидного и фосфолипидного обменов у детей, больных септикопиемической формой острого гематогенного остеомиелита / С.Н. Гисак, В.И. Руднев, О.Л. Морозова, И.Х. Лорсанова // Актуальные вопросы хирургической инфекции у детей: мат. Всерос. симпозиума детских хирургов. – Воронеж, 2004. – С. 59–60.

49. Изучение роли активации свободнорадикального окисления у больных раком щитовидной железы / Е.В. Зяблов, В.Г. Беспалов, Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков // Медлайн-экспресс. – 2010. – № 1. – С. 25–27.

50. Имянитов Е.Н. Клинико-молекулярные аспекты колоректального рака: этиопатогенез, профилактика, индивидуализация лечения // Практическая онкология. –2005. – Т. 6, № 2. – С. 65–70.

51. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 131–139.

52. Канцерогенез: патофизиологические и клинические аспекты / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов: Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 2011. – 600 с.

53. Канцерогенез, цитокины и иммунитет: патогенетическая взаимосвязь в динамике развития неоплазий / под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, В.Ю. Барсукова. – Саратов:. Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 2014. – 328 с.

54. Кветной И.М. APUD-система (структурно-функциональная организация, биологическое значение в норме и патологии) // Успехи физиол. наук. – 1987. –№ 18. – С. 84–102.

55. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: ООО «Издательство Фомиат», 2008. – 552 с.

56. Кныш В.И. Рак ободочной и прямой кишки. М., 1997.

57. Кобляков В.А. Индукторы цитохрома Р-450 как промоторы канцерогенеза // Биохимия. – 1998. – № 53 (8). – С. 1043–1058.

58. Кобляков В.А. Цитохромы семейства Р-450 и их роль в активации проканцерогенов. – М.: ВИНИТИ, 1990.

59. Ковалевский, А.Н. Замечания по скрининговому методу определения молекул средних масс / А.Н.Ковалевский, О.Е.Нифантьев // Лабораторное дело. - 1999. - №10. - С. 35-39.

60. Колоректальный рак и инсулиноподобные факторы роста / А.А. Николаев, Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, В.В. Делекторская, Е.К. Дворова // Онкологическая колопроктология. – 2013. – № 2. – С. 11–14.

61. Колоректальный рак и предопухолевая патология: новые методики эндоскопической диагностики и требования к подготовке толстой кишки / Б.К. Поддубный, С.В. Кашин, Я.В. Политое, Р.О. Куваев // Рус. мед. журн.– 2006. – № 8 (2). – С. 122–124.

62. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия: пер. с нем. – М.: Мир, 2000. – 469 с.

63. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 1. – С. 5–33.

64. Копнин Б.П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 229–235.

65. Копнин Б.П. Онкогены, антионкогены, канцерогенез // Архив патологии. – 1990. – № 9. – С. 3–11.

66. Копнин Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного роста // Мат. X Российского онкологического конгресса. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2006. – С. 99–102.

67. Кривцова, О.М., Лазаревич Н.Л. Аллель-специфическая экспрессия генов при канцерогенезе // Успехи молекулярной онкологии. – 2016. – Т. 3, № 2. – С. 8–13.

68. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки. – М.: Мир, 1999. – С. 390–422.

69. Лихтенштейн А.В., Бассалык Л.С. Введение в проблемы биохимии и физиологии опухолевого роста // Элементы патологической физиологии и биохимии / под ред. И.П. Ашмарина. – М.: Изд-во Моск. гос. Ун-та, 1992.

70. Мареев О.В., Чеснокова Н.П., Капустина Н.Ю. О состоянии процессов липопероксидации при хроническом синусите // Активные формы кислорода, оксид азота и здоровье человека: мат. V Национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Смоленск, 2007. – С. 356.

71. Мареев О.В., Чеснокова Н.П., Капустина Н.Ю. Патогенетическое обоснование использования антиоксидантов в комплексной терапии обострения хронического синусита // Патофизиология в современной медицине: мат. межрегион. науч. конференции, посвященной 70-летию кафедры патофизиологии ИГМА. – Ижевск, 2007. – С. 82–85.

72. Мартынюк В.В. Рак ободочной кишки (заболеваемость, смертность, факторы риска, скрининг) // Практическая онкология. – 2000. – № 1. – С. 3–9.

73. Мельников Р.А., Ковалев В.А., Правосудов И.В. Полипы и рак толстой кишки // Хирургия. – 1989. – № 5.– С. 101–102.

74. Многоэтапная система диагностики воспалительных и опухолевых заболеваний толстой кишки / Д.В. Бурцев, А.Ю. Максимов, М.Г. Ильяшенко, Г.Н. Тарасова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7. – С. 54–57.

75. Моисеенко В.М. «Естественная история» роста рака молочной железы // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 6–14.

76. Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М., Неродо Г.А. Некоторые показатели антиоксидантной активности ткани гиперпластического и злокачественно трансформированного эндометрия //Сибирский онкологический журнал. – 2009. – Прил. № 2. – С. 138–139.

77. Молекулярная биология клетки / Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. [и др.]. – М.: Мир, 1986. – Т. 1–3.

78. Молекулярно-генетическая диагностика основных наследственных форм колоректального рака / Н.И. Поспехова, А.С. Цуканов, В.П. Шубин и др. // Медицинский алфавит. – 2014. – № 2. – С. 11–15.

79. Молекулярно-генетическая диагностика основных наследственных форм колоректального рака / Н.И. Поспехова, А.С. Цуканов, В.П. Шубин, И.Ю. Сачков, С.И. Ачкасов, В.Н. Кашников, С.А. Фролов, Ю.А. Шелыгин // Медицинский алфавит. – 2014. – № 2. – С. 11–15.

80. Молекулярно-генетическое исследование наследственной предрасположенности к разным формам полипоза толстой кишки / Шелыгин Ю.А., Кашников В.Н., Фролов С.А. [и др.] // Колопроктология. – 2013. – № 1(43). – С. 9–14.

81. Морозова О.Л., Чеснокова Н.П. Характер и механизмы развития системных метаболических и функциональных расстройств, аутоинтоксикации в динамике прогрессирования острого гематогенного

остеомиелита // Саратовский научно-медицинский вестник. – 2004. – № 2 (5). – С. 79–86.

82. Нефёдова Н.А., Мальков П.Г. Роль стволовых клеток в канцерогенезе толстой кишки // Колопроктология. – 2015. – Т. 5, № 5. – С. 15–24.

83. Ногаллер А.М., Рязань-Бамберг. Эндо- и экзогенные факторы в патогенезе рака толстой кишки // Клиническая медицина. – 2003. – № 6. – С. 66–68.

84. Овсянников В.А. Энергетическая модель канцерогенеза: подтверждения // Вопросы онкологии. – 2005. – № 2. – С. 154–158.

85. Оловников А.М. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов // Докл. Акад. наук. – 1971. – № 201. – С. 1496–1499.

86. Основы общей патологии. Часть 2. Основы патохимии / под ред. А.Ш. Зайчика, Л.П.Чурилова. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 384 с.

87. Парфенов А.И., Осипов Г.А., Ручкина И.Н. Теоретические вопросы дисбактериоза кишечника // Consilium medicum. – 2003. – № 6. – С. 328–330.

88. Пескин А.В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия. – 1977. – Т. 62. – С. 1571–1578.

89. Покровский, А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов / А.А. Покровский, А.А. Абраров // Вопросы питания. -1964. - №6. - С. 44-49.

90. Пророков В.В., Малихов А.Г., Кныш В.И. Современные принципы диагностики и скрининга рака прямой кишки // Практическая онкология – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 1–5.

91. Раскин Г.А. Петров С.В., Орлова Р.В. Особенности канцерогенеза аденокарциномы толстой кишки // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – № 4. – С. 73–79.

92. Рахимова О.Ю, Александров В.Б. Колоректальный рак – актуальная проблема внутренней медицины // Клиническая медицина. – 2008. – № 3. – С. 7–12.

93. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами / И.В. Кондакова, Г.В. Какурина, Л.П. Смирнова, Е.В. Борунов // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – № 1(13). – С. 58–62.

94. Результаты лечения неосложненного рака ободочной кишки / Г.И. Воробьев, А.П. Жученко, А.Ф. Филон, С.И. Ачкасов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 7. – С. 10–14.

95. Ривкин В.Л., Бронштейн А.С., Фаин С.И. Руководство по колопроктологии. – М., 2001.

96. Роль Е-кадхерина в неопластической эволюции эпителиальных клеток / Н.А. Глушанкова, И.Ю. Житняк, Д.В. Айолло, С.Н. Рубцова // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 1. – С. 12–17.

97. Рябов Г.А. Синдромы критических состояний. – М.: Медицина, 1994. – С. 136–250.

98. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер. биофизика. - М., 1991. - Т. 29. - 147 с.

99. Секачева М.И., Ивашкин В.Т. Скрининг колоректального рака в России // Рос. журн. гастроэнтерол, гепатол. – 2003. – № 4. – С. 44–49.

100. Семиотика колоректального рака по данным виртуальной колоноскопии / Е.Ю. Хомутова, Ю.Т. Игнатьев, В.Л. Полуэктов, Ю.Г. Филиппова, В.А. Никоненко // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 4. – С. 34–40.

101. Симбирцев А.С. Достижения и перспективы использования рекомбинантных цитокинов в клинической практике // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 7–22.

102. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 18–41.

103. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–22.

104. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–16.

105. Скулачев В.П. Альтернативные функции клеточного дыхания // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 8. – С. 2–7.

106. Смирнова Л.П., Кондакова И.В. Антиоксидантные ферменты ингибируют пролиферацию опухолевых клеток // Проблемы современной онкологии: тез. докл. науч.-практ. конференции. – Томск, 1999. – С. 290–291.

107. Современные методы диагностики и оценки степени распространенности рака ободочной и прямой кишки / В.П. Земляной, Т.Н. Трофимова, С.Л. Непомнящая, Т.В. Дементьева // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 71–80.

108. Содержание субпопуляций лимфоцитов в ткани одиночного и синхронного рака толстой кишки / О.И. Кит, Е.Ю. Златник, Е.А. Никипелова [и др.] // Тюменский медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 73–74.

109. Содержание субпопуляций лимфоцитов в ткани одиночного и синхронного первично-множественного рака толстой кишки / О.И. Кит, Е.Ю. Златник, Е.А. Никипелова, Ю.А. Геворкян, М.А. Аверкин, И.А. Новикова, А.В. Дашков // Тюменский медицинский журнал. – 2012. – № 4. –С. 73–74.

110. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 236с.

111. Сравнительная оценка состояния иммунологических механизмов защиты при солитарном и синхронном билатеральном раке молочной железы / Н.П. Чеснокова, В.Ю. Барсуков, Т.Д. Селезнева, О.А. Злобнова // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 10. – С. 57–59.

112. Суплонов, С.Н. Колориметрический метод определения малонового диальдегида в цельной крови / С.Н. Суплонов, Э.Н.Баркова // Лабораторное дело. - 1985. - №8. - С. 459-463.

113. Телетаева Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 211–218.

114. Темников Р.А. Значение недостаточности иммунологических механизмов защиты в развитии послеоперационных осложнений у больных раком прямой кишки и возможности ее коррекции: автореф. дис. … канд. мед. наук. – Саратов, 2000. – 24 с.

115. Турусов В.С., Томатис Л. Трансплацентарный и трансгенерационный канцерогенез // Архив патологии. – 1997. – № 59 (5). – С. 7–12.

116. TNM: Классификация злокачественных опухолей / под ред. Л.Х. Собина [и др.]; пер. с англ. и научн. ред. А.И. Щёголев, Е.А. Дубова, К.А. Павлов. – М.: Логосфера, 2011. – 304 с.

117. Фактор некроза опухоли при болезни крона и раке толстой кишки / М.З. Тымкив, Е.П. Корнейчук, Ю.С. Лозинский [и др.] // Колопроктология. – 2012. – № 3. – С. 31–33.

118. Фархутдинов Р.Р., Мусин Ш.И., Кзыргалин Ш.Р. Свободные радикалы, пролиферация и канцерогенез // Креативная хирургия и онкология. – 2011. – № 2. – С. 109–112.

119. Федоров В.Д. О лечебной тактике при полипах толстой кишки // Хирургия. – 1987. – № 1. – С. 82–86.

120. Ходосова И.А. Ферменты опухолевых клеток. – Л.: Наука, 1988. – 176 с.

121. Хромова Н.В., Копнин П.Б., Копнин Б.П. Стимуляция гемангиогенеза, лимфангиогенеза и васкулогенной мимикрии при различных нарушениях функции опухолевого супрессора p53 в ксенографтах рака ободочной кишки // Онкологическая колопроктология. – 2011. – № 2. – С. 37–43.

122. Хышиктуев Б.С., Каюкова Е.В. Патогенетические аспекты участия жирных кислот в опухолевом процессе // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2013. – № 2. – С. 166–181.

123. Цебржинский О.И. Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. – Полтава, 1992. – С. 120–142.

124. Циммерман Я.С. Колоректальный рак: современное состояние проблемы // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. – № 4. – С. 5–16.

125. Цитокиновый состав ткани полипов толстой кишки / Е.Ю. Златник, Е.А. Никипелова, А.Л. Терпугов, А.Ю. Максимов [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 5. – С. 1016–1020.

126. Цитокины: биологическая роль в развитии реакций адаптации и повреждения в условиях нормы и патологии различного генеза / В.М. Попков, Н.П. Чеснокова, Н.Б. Захарова [и др.]; под общ. ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой. – Саратов: Изд-во Сарат. гос. мед. ун-та, 2016. – 448 с.

127. Частота расспространенности и скрининг диагностика колоректального рака / З.К. Гусеинова, Д.Ж. Тайжанова, З.Б. Тауешева, М.К. Мандыбаева, А.О. Холошенко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 3. – С. 190–197.

128. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А. и др. //Матер. 5-ой междунар. конф. «Биоантиоксидант».- М., 1998.- С.187.

129. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Источники образования свободных радикалов и их значение в биологических системах в условиях нормы // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 6. – С. 28–34.

130. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 22–27.

131. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы цитотоксического действия гипоксии. Патогенез гипоксического некробиоза // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 7. – С. 31–39.

132. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 37–41.

133. Чиссов В.И. // Мат. Всероссийской науч.-практ. конф. по актуальным проблемам диагностики и лечения колоректального рака. М., 2009.

134. Шабад Л.М. О циркуляции канцерогенов в окружающей среде. М., 1973.

135. Шапошников А.В., Рядинская Л.А. Канцерогенез и оксидативный стресс // Кубанский медицинский вестник. – 2010. – № 3–4. – С. 117–118.

136. Шок как проявление реакции дезадаптации при стрессе / под ред. П.В. Глыбочко, А.А. Свистунова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – М.: Академия естествознания, 2009. – 528 с.

137. Яицкий Н.А., Седов В.М., Васильев С.В. Опухоли толстой кишки. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – С. 151–153.

138. Янковский О.Ю. Токсичность кислорода и биологические системы. Эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты. – СПб., 2000. – 295 с.

139. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma / A.K. Perl, P. Wilgenbus, U. Dahl [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 392. – P. 190–193.

140. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // Nature Rev. Immunol. – 2004. – Vol. 4. – P. 499–511.

141. Antitumor monoclonal antibodies enhance cross-presentation of cellular antigens and the generation of myeloma-specific killer T cells by dendritic cells / K.M. Dhodapkar, J. Krasovsky, B. Williamson [et al.] // J. Exp. Med. – 2002. – Vol. 195. – P. 125–133.

142. Arends M.J. Pathways of colorectal carcinogenesis // Appl Immunohistochem Mol Morphol. – 2013. – Vol. 21(2). – P. 97–102.

143. Arginase I: a limiting factor for nitric oxide and polyamine synthesis by activated macrophages? / D. Kepka-Lenhart [et al.] // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2000. – Vol. 279, № 6. – P. R2237– R2242.

144. A robust assay for alternative lengthening of telomeres in tumors shows the significance of alternative lengthening of telomeres in sarcomas and astrocytomas / J.D. Henson, J.A. Hannay, S.W. McCarthy [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2005. – Vol. 11. – P. 217–225.

145. Beevi S.S.S., Rasheed A.M.H., Geetha A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer // Japanes Journal of Clinical Oncology. – 2004. – Vol. 34, № 7. – P. 379–385.

146. Bellacosa A. Genetic hits and mutation rate in colorectal tumorigenesis: versatility of Knudson's theory and implications for cancer prevention // Genes Chromosomes Cancer. – 2003. – Vol. 38. – P. 382–388.

147. Bellisolaa G., Casarila M. Catalase activity in human hepatocellular carcinoma // Clinical Biochemistry. – 1987. – Vol. 20, № 6. – P. 415–417.

148. Biochemical studies on the level of lipid hydroperoxide and antioxidants in different types of obstructive jaundice / A. Geetha, S. Karthiga, G. Surendran, G. Jayalakshmi // Journal of Laboratory and Clinical Medicine. – 2001. – Vol. 2, № 1. – P. 20–25.

149. Blask D.E. Melatonin in oncology // H.-S. Yu, R.J. Reiter, eds. Melatonin: Biosynthesis, physiological effects, and clinical applications. – Boca Raton: CRC Press, 1993. – P. 253–284.

150. Blockade of telomerase function in various cells / Y.E. Yegorov, S.S. Akimov, A.K. Akhmalisheva [et al.] // Anti-Cancer Drug Design. – 1999. – Vol. 14. – P. 305–316.

151. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signaling // Nature. –2001. – Vol. 411. – P. 355–365.

152. Bukovski A. Mesenchymal Cells in Tissue Homeostasis and Cancer // Mod Asp Immunobiol. – 2000. – Vol. 1 (2). – P. 43–47.

153. Burdon R.H. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation // Free Radical Biology & Medicine. – 1995. – Vol. 18, № 4. – P. 775–795.

154. Burkitt D. Epidemiology of cancer of the colon and rectum // Cancer (Philad.). – 1971. – Vol. 28. – P. 3–13.

155. Cancer Statistics / A. Jamal, T. Murray, A. Samuels [et al.] // Cancer J. Clin. 2003. – Vol. 53. – P. 5–26.

156. Cancer statistics / Jamal A. [et al.] // Cancer J. Clin. – 2002. – Vol. 52. – P. 23–47.

157. Cancer statistics 2008 / A. Jemal, R. Siegel, E. Ward [et al.] // CA Cancer J Clin. – 2008. – Vol. 58. – P. 71–96.

158. Cavallaro U., Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer // Nat Rev Cancer. – 2004. – Vol. 4. – P. 118–132.

159. Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer / H. Schwarzenbach, C. Alix-Panabieres, I. Muller [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2009. – Vol. 15. – P. 1032–1038.

160. Cerutti P.A. Oxy-radicals and cancer // Lancet. – 1994. – Vol. 344, № 8926. – P. 862–865.

161. Cheeseman K.H., Emery S. Studies on lipid peroxidation in normal and tumour tissues // Biochemical Journal. – 1988. – Vol. 250, part 1. – P. 247–252.

162. Cheesman K. H., Graham W. Lipid Peroxidation d Lipid Antioxidants in Normal and Tumor Cells // Toxicologic Patology. – 1984. – Vol. 12, № 3. – P. 235–239.

163. Chemical carcinogenesis / P.A. Oliveira, A. Colaco, R. Chaves, H. Guedes-Pinto [et al.] // Ann. Brasilian Acad. Scien. – 2007. – Vol. 70, № 4. – P. 593–616.

164. Choi J.J., Reich C.F., Pisetsky D.S. The role of macrophages in the in vitro generation of extracellular DNA from apoptotic and necrotic cells // Immunology. – 2005. – Vol. 115. – P. 55–62.

165. Circulating nucleic acids and apoptosis / A.V. Lichtenstein, H.S. Melkonyan, L.D. Tomei, S.R. Umansky // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2001. – Vol. 945. – P. 239–249.

166. Classifying collective cancer cell invasion / P. Friedl, J. Locker, E. Sahai [et al.] // Nat Cell Biol. – 2012. – Vol. 14, № 8. – P. 777–783.

167. Computed tomographic colonography (virtual colonoscopy): A multicenter comparison with standard colonoscopy for detection of colorectal neoplasia / P.B. Cotton, V.L. Durkalski, B.C. Pineau [et al.] // JAMA. – 2004. – Vol. 291. – P. 1713–1719.

168. Condeelis J., Pollard J.W. Macrophages: Obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis // Cell. – 2006. – Vol. 124. – P. 263–266.

169. Conen, S. Measurement of Catalase Activity in tissue extracts / S. Conen, D. Dembuc, S. Markec // Anal.Biochemic. - 1970. - Vol. 34. - P. 30-38.

170. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin / M. Curto, B.K. Cole, D. Lallemand [et al.] // J Cell Biol. – 2007. – Vol. 177. – P. 893–903.

171. Copperzinc superoxide dismutase expression by different osteosarcoma cell lines / B. Grigolo, G. Lisignoli, S. Toneguzzi [et al.] // Anticancer Research. – 1998. – Vol. 18, № 2. – P. 1175–1180.

172. Dendritic cell immunotherapy: mapping the way / C.G. Figdor, I.J. de Vris, W.J. Lesterhuis, C.J. Melief // Nat. Med. – 2004. – Vol. 10. – P. 475–480.

173. Dendritic cells: A journey from laboratory to clinic / V. Gerundolo, I.F. Hermans, M. Salio [et al.] // Nat. Immunol. – 2000. – № 5. – P. 7–10.

174. Detection of tumor-specific DNA in blood and bone marrow plasma from patients with prostate cancer / H. Schwarzenbach, F.K. Chun, I. Lange [et al.] // Int. J. Cancer. – 2007. – Vol. 120. – P. 1465–1471.

175. Differential antitumor immunity mediated by NKT cells subsets *in vivo* / N.Y. Crowe, J.M. Coquet, S.P. Berzins [et al.] // J. Exp. Med. – 2005. – Vol. 202. – P. 1279–1288.

176. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells / S. Jahr, H. Hentze, S. Englisch [et al.] // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61. – P. 1659–1665.

177. Downmodulation of bFGF-binding protein expression following restoration of p53 function // Z.A. Sherif, S. Nakai, K.F. Pirollo, A. Rait [et al.] // Cancer Gene Therapy. – 2001. – Vol. 8, № 10. – P. 771–782.

178. Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – Vol. 4. – P. 11–22.

179. Dranoff G. The therapeutic implications of intratumoral regulatory T cells // Clin. Cancer Res. – 2005. – Vol. 11. – P. 8226–8229.

180. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell ruction // Physiological Reviews. – 2001. – Vol. 82, № 1. – P. 47–95.

181. Eaden J., Abrams K., Mayberry J. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: A case-control study // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol. 14. – P. 145–153.

182. Early detection of tumor cells by innate immune cells leads to Treg recruitment through CCL22 production by tumor cells / J. Faget, C. Biota, T. Bachelot [et al.] // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71, № 19. – P. 6143–6152.

183. Eddy D.M. Screening for colorectal cancer // Ann. Intern. Med. – 1990. – Vol. 113. – P. 373–384.

184. Erichsen H. C., Chanock S. J. SNPs in cancer research and treatment // Br J Cancer. – 2004. – Vol. 90, № 4. – P. 747–751.

185. Erythrocyte fatty acids and risk of proliferative and nonproliferative fibrocystic disease in women in Shanghai, China / J. Shannon [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2009. – Vol. 89, № 1. – P. 265–276.

186. Evaluation of antioxidant capacity in lung carcinoma / S. Topdag, A. Aslaner, C. Tataroglu, Z. Ilce // Indian Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery. – 2005. – Vol. 21, № 4. – P. 269–271.

187. Evan G.I., Vousden K.H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer // Nature. – 2001. – Vol. 411. – P. 342–348.

188. Expression of insulin-like growth factor system components in colorectal tissue and its relation with serum IGF levels / A. Vrieling, D.W. Voskuil, A. Bosma [et al.] // Growth Horm IGF Res. – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 126–135.

189. Expression of the insulin-like growth factor-I receptor and proapoptotic Bax and Bak proteins in human colorectal cancer / M. Koda, J. Reszec, M. Sulkowska [et al.] // Ann NY Acad Sci. – 2004. – Vol. 1030. – P. 377–383.

190. Faivre J. Screening for colorectal cancer: who, when, haw? // 3 International conference, June 7–9, 2001, Dublin, Ireland. – P. 13.

191. Faivre J., Tazi M.A. Fecal occult blood screening ahd reduction of colorectal cancer mortality; a case control study // Br. J. Cancer. – 1999. – Vol. 79. – P. 680–683.

192. Fatty acid composition of plasma phospholipids and risk of prostate cancer in a case-control analysis nested within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition / F.L. Crowe [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – Vol. 88, № 5. – P. 1353–1363.

193. Fried, R. Enzymatic and new – enzymatic assay of Superoxide Dismutase / R. Fried // Biochemic. - 1975. - Vol. 57. - P. 675-680.

194. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis // Semin. Oncol. – 2002. – Vol. 29. – P. 15–18.

195. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system / S. Sakaguchi, M. Miyara, C.M. Costantino, D.A. Hafler // Nature Rev. Immunol. – 2010. – Vol. 10. – P. 490–500.

196. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor / M. Miyara, Y. Yoshioka, A. Kitoh [et al.] // Immunity. – 2009. – Vol. 30. – P. 899–911.

197. Gahan P.B., Swaminathan R. Circulating nucleic acids in plasma and serum. Recent developments // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2008. – Vol. 1137. – P. 1–6.

198. Gamberini M., Leite L.C. Proliferation of mouse fibroblasts induced by 1,2-dimethylhydrazine auto-oxidation: role of iron and free radicals // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1997. – Vol. 234, № 1. – P. 44–47.

199. Giardiello F.M. Gastrointestinal polyposis syndromes and hereditary nonpolyposis colorectal cancer // Gastrointestinal cancers: Biology, diagnosis and therapy / Ed. A. Rustgi. – N. Y., 1995. – P. 367–377.

200. Gokul S., Patil V.S. Oxidant-antioxidant status in blood and tumor tissue of oral squamous cell carcinoma patients // Oral Diseases. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 29–33.

201. Grady W.M., Markowitz S.D. Genetic and epigenetic alterations in colon cancer // Ann. Rev. Genomics. Hum. Genet. – 2002. – Vol. 3. – P. 101–128.

202. Graziano D.F., Finn O.J. Tumor antigens and tumor antigen discovery // Cancer. Treat. Res. – 2005. – Vol. 123. – P. 89–111.

203. Green D.R. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors // Cell. – 2000. – Vol. 102. – P. 1–4.

204. Green D.R. Apoptotic pathways: the roads to ruin // Cell. – 1998. – Vol. 94. – P. 695–698.

205. Greider C.W., Blackburn E.H. Telomeres, telomerase and cancer // Sci. Am. – 1996. – Vol. 274. – P. 92–97.

206. Guarino M., Rubino B., Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology // Pathology. – 2007. – Vol. 39, № 3. – P. 305–318.

207. Guyton K.Z., Kensler T.W. Oxidative mechanisms in carcinogenesis // British Medical Bulletin – 1993. – Vol. 49, № 3. – P. 523–544.

208. Hallwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? // Biochem J. – 2007. – № 401. – P. 1–11.

209. Hasegawa K., Ueda M., Watanabe M. K-ras gene mutations in early colorecnal cancer // Oncogene. – 1995. – Vol. 10, № 7. – P. 1413–1416.

210. Haydon A.M., Jass J.R. Emerging pathways in colorectal- cancer development // Lancet Oncol. – 2002. – Vol. 3. – P. 83–88.

211. Hayflick L., Moorhead P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains // Exp. Cell Res. – 1961. – Vol. 25. – P. 585–621.

212. Helm J.F., Sandler R.S. Colorectal cancer screening // Med. Clin. North. Am. – 1999. – Vol. 83. – P. 1403–1422.

213. Herceg Z., Hainaut P.P. Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis // Molecular Oncology. – 2007. – № 1. – P. 26–41.

214. Heritable germline epimutation of MSH2 in a family with hereditary nonpolyposis colorectal cancer // T.L. Chan, S.T. Yuen, C.K. Kong [et al.] // Nat Genet. – 2006. – Vol. 38, № 10. – P. 1178–1183.

215. Heritable somatic methylation and nactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3’ exons of *TACSTD1* / M.J. Ligtenberg, R.P. Kuiper, T.L. Chan [et al.] // Nat Genet. – 2009. – Vol. 41, № 1. – P. 112–117.

216. HIF-2alpha promotes hypoxic cell proliferation by enhancing c-myc transcriptional activity / J.D. Gordan [et al.] // Cancer Cell. – 2007. – Vol. 11, № 4. – P. 335–347.

217. HIF-2alpha specifically activates the VE-cadherin promoter independently of hypoxia and in synergy with Ets-1 through two essential ETS-binding sites / A. Le Bras [et al.] // Oncogene. – 2007. – Vol. 26, № 53. – P. 7480–7489.

218. Houlston R.S. What we could do now: molecular pathology of colorectal cancer // Mol. Pathol. – 2001. – Vol. 54. – P. 206–214.

219. Huang R.Y., Guilford P., Thiery J.P. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition // Journal of Cell Science. – 2012. – Vol. 125, № 19. – P. 4417–4422.

220. Hypoxia modulates lipopolysaccharide induced TNF-alpha expression in murine macrophages / Y. Liu [et al.] // Exp Cell Res 2008. – Vol. 314, № 6. – P. 1327–1336.

221. Iacopetta B. Are there two sides to colorectal cancer? // Int. J. Cancer. – 2002. – Vol. 101. – P. 403–408.

222. IGF-I, IGF-II, IGFBP2, IGFBP3 and acid-labile subunit (ALS) in colorectal cancer patients before surgery and during one year follow up in relation to age // K. Sztefko, D. Hodorowicz-Zaniewska, T. Popiela, P. Richter // Adv Med Sci. – 2009. – Vol. 54, № 1. – P. 51–58.

223. Ilyas M. Wnt signalling and the mechanistic basis of tumour development // J. Pathol. – 2005. – Vol. 205, № 2. – P. 130–144.

224. Improved detection reveals active β-papillomavirus infection in skin lesions from kidney transplant recipients / C. Borgogna, S. Lanfredini, A. Peretti, M. de Andrea, E. Zavattaro, E. Colombo, M. Quaglia, R. Boldorini, U. Miglio, J. Doorbar, J.N. Bavinck, K.D. Quint, M.N. de Koning, S. Landolfo, M. Gariglio // Mod Pathol. – 2014. – Jan 3. doi: 10.

225. Inhibition of VEGF or TGF signaling activates endothelium and increases leucocyte rolling / T.E. Walshe, V.S. Dole, A. Maharaj [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2009. – Vol. 29. – P. 1185–1192.

226. Insulin-like growth factors induce apoptosis as well as proliferation in LIM 1215 colon cancer cells / P. Fu, J.A. Thompson, K.S. Leeding, L.A. Bach // J Cell Biochem. – 2007. – Vol. 100, № 1. – P. 58–68.

227. Johne D. New faecal calprotectin test for colorectal neoplasia. The clinical results and comparison with preceding method // Scand. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 36. – P. 291–296.

228. Kastrinos F., Syngal S. Inherited Colorectal Cancer Syndromes // Cancer J. – 2011. –№ 17 (6). – P. 405–415.

229. Knockdown of IGF-IR by RNAi inhibits SW480 colon cancer cells growth in vitro / K. Yavari, M. Taghikhani, M.G. Maragheh [et al.] // Arch Med Res 2009. – Vol. 40, № 4. – P. 235–240.

230. Kondo T., Ezzat S., Asa S.L. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia // Nat Rev Cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 292–306.

231. Kondo Y., Issa J.P. Epigenetic changes in colorectal cancer // Cancer Metastasis Rev. – 2004. – Vol. 23. – P. 29–39.

232. Kvetnoy I.M., Yuzhakov V.V. Extrapineal melatonin: nontraditional localization and possible significance for oncology // Advanc. Pineal Res. – 1994. – Vol. 7. – P. 199–212.

233. Laccarino I., Hancock D. -c-Myc Induces cytochrome c release in Rat 1 fi broblasts by increasing outer mitochondrial membrane permeability in Bid-dependent manner // Cell Death Differ. – 2003. – Vol. 10, № 5. – P. 599–608.

234. Ladanyi A. Fuction and prognostic signifi cance of immune cells infi ltrating human tumors // Magy. Oncol. – 2004. – Vol. 48, № 1. – P. 49–56.

235. Lee H.C., Wei Y.H. Mitochondrial DNA instability and metabolic shift in human cancers // International Journal of Molecular Sciences. – 2009. – Vol. 10, № 2. – P. 674–701.

236. Levin T.R. Colorectal screening: new opportunities / Surg Oncol. Clin. N. Am. – 1999. – Vol.8. – P.673–691.

237. Li Z., Diehl A.M. Innate immunity in the liver // Curr. Opin Gastraenterol. – 2003. – № 19 (6). – P. 565–571.

238. Long-lived intestinal tuft cells serve as colon cancer-initiating cells / C.B. Westphalen, S. Asfaha, Y. Hayakawa, Y. Takemoto, D.J. Lukin, A.H. Nuber, A. Brandtner, W. Setlik, H. Remotti, A. Muley, X. Chen, R. May, C.W. Houchen, J.G. Fox, M.D. Gershon, M. Quante, T.C. Wang // J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 124, № 3. – P. 1283–1295.

239. Lymphatic vessel density, microvessel density and lymphangiogenic growth factor expression in colorectal cancer / S.E. Duff, M. Jeziorska, S. Kumar, N. Haboubi [et al.] // Colorectal Dis. – 2007. – Vol. 9, № 9. – P. 793–800.

240. Macrophage activation and polarization / F.O. Martinez [et al.] // Front Biosci. – 2008. – Vol. 13. – P. 453–461.

241. Macrophage migration inhibitory factor activates hypoxia-inducible factor in a p53-dependent manner / S. Oda [et al.] // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3, № 5. – P. e2215.

242. Macrophage polarization: tumorassociated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes / A. Mantovani [et al.] // Trends Immunol 2002. – Vol. 23, № 11. – P. 549–555.

243. Malins D.E., Polissar N.L., Gunselman S.J. Progression of human breast cancers to the metastatic state is linked to hydroxyl radical-induced DNA damage // Proceedings of the National Academy of Science of USA. – 1996. – Vol. 93, № 6. – P. 2557–2563.

244. Malmberg K.J. Effective immunotherapy against cancer: A question of overcoming immune suppression and immune escape? // Cancer Immunol. Immunother. – 2004. – Vol. 53. – P. 879–892.

245. Manju V., Kalaivani Sailaja J., Nalini N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study // Clinical Biochemistry. – 2002. – Vol. 35, № 8. – P. 621–625.

246. Martinon F., Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation // Cell Death Differ. – 2007.– Vol. 14.– P. 10–22.

247. Melatonin, free radicals and cancer initiation / R.J. Reiter, B. Poeggeler, D.X. Tan [et al.] // Advanc. Pineal Res. – 1994. – Vol. 7. – P. 212–228.

248. Miura Y., Anzai K., Urano S., Ozawa T. In vivo electron paramagnetic resonance studies on oxidative stress caused by x-radiation in whole mice // Free Radical Biology & Medicine. – 1997. – Vol. 23, № 4. – P. 533–540.

249. Mocellin S., Mandruzzato S., Bronte V., Marincola F.M. Cancer vaccines: Pessimism in check // Nat. Med. – 2004.–Vol. 10. – P. 1278–1280.

250. Morin P.J. b-catenin signaling and cance // Bio Essays. – 1999. – Vol. 21. – P. 1021–1030.

251. Muntoni A., Reddel R.R. The first molecular details of ALT in human tumor cells // Hum. Mol. Genet. – 2005. – Vol. 14. – P. R191–R196.Ohtani H. Pathophysiologic signifi cance of host reactions in human cancer tissue: desmoplasia and tumor immunity // Tohoku J. Exp. Med. – 1999. – Vol. 187. – P. 193–202.

252. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC / H.F. Vasen, P. Watson, J.P. Mecklin, H.T. Lynch // Gastroenterology. – 1999. – Vol. 116, № 6. – P. 1453–1456.

253. Novo E., Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fi brogenesis // Fibrogenesis and Tissue repair. – 2008. – Vol. 1, № 5. – P. 1–58.

254. Papillomaviruses: evolution, Linnaean taxonomy and current nomenclature / K. van Doorslaer, H.U. Bernard, Z. Chen, E.M. de Villiers, H. zur Hausen, R.D. Burk // Trends Microbiol. – 2011. – Feb. – Vol. 19, № 2. – P. 49–50.

255. Perforin-mediated cytotoxicity is critical for surveillance of spontaneous lymphoma / M. Smyth, K. Thia, S. Street [et al.] // J. Exp. Med. – 2000. – Vol. 192. – P. 755–760.

256. Phospholipase A stimulation in tumor cells by subtoxic concentrationof tert-butyl hydroperoxide / I. Kondakova, F. Peiretti, G. Nalbone, H. Lafont // Biochimica Biophysica Acta. – 1995. – Vol. 1258, № 3. – P. 297–302.

257. Pickhardt P.J., Arluk G.M. Atlas of gastrointestinal imaging radiologicendoscopic correlation. – 2007. – P. 211–328.

258. Pollard J.W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis // Nat Rev Cancer. – 2004. – Vol. 4, № 1. – P. 71–8.

259. Premature senescence of mesothelial cells is associated with non-telomeric DNA damage / K. Ksiazek, J.F. Passos, S. Olijslagers [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2007. – Vol. 362. – P. 707–711.

260. Prendergast G.C. Molecular Cancer Therapeutic: Strategies for Drug Discovery and Development. – N. Y.: Willey-Liss, 2004. – 351 с.

261. Prevalence of regulatory T-cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas and breast adenocarcinoma / U.K. Liyanage, T.T. Moore, H.G. Joo [et al.] // J. Immunol. – 2002. – Vol. 169. – P. 2756–2761.

262. Priming of naive T cells inside tumors leads to eradication of established tumors / P. Yu, Y. Lee, W. Chin [et al.] // Nat. Immunol. – 2004. – Vol. 5. – P. 141–149.

263. Prognostic impact of hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha in colorectal cancer patients: correlation with tumor angiogenesis and cyclooxygenase-2 expression / H. Yoshimura [et al.] // Clin Cancer Res. – 2004. – Vol. 10, № 24. – P. 8554–8560.

264. Prognostic significance of preoperative serum CA 19-9 assay in patients with colorectal carcinoma / M. Diez, F.J. Cerdan, M. Pollan [et al.] // Anticancer Res. – 1994. – Vol. 14. – P. 2819–2825.

265. Prognostic value of tumour-infi ltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer / K.M. Ropponen, M.J. Eskelinen, P.K. Lipponen, E. Alhava, V.M. Kosma // J. Pathol. – 1997. – Vol. 182. – P. 318–324.

266. Randomized trial of antioxidant vitamins to prevent acute adverse effects of radiation therapy in head and neck cancer patients / I. Bairati, F. Meyer, M. Gélinas [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2005. – Vol. 23, № 24. – P. 5805–5813.

267. Ransohoff D.F., Sandler R.S. Clinical practice. Screening for colorectal cancer // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol. 346. – P. 40–44.

268. Ray G., Batra S. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer// Breast Cancer Research and Treatment. – 2000. – Vol. 59, № 2. – P. 163–170.

269. Read T.E., Kodner I.J. Colorectal cancer: risk factors and recommendations for early detection // Am. Fam. Physician. – 1999. – Vol. 59. – P. 3083–3093.

270. Remote myocardium gene expression after 30 and 120 min of ischaemia in the rat / Guerra M.S. [et al.] // Exp Physiol. – 2006. – Vol. 91, № 2. – P. 473–480.

271. Reyes I. Oxidative stress Pathway – 2005 // http://irevessience.net.

272. Roovers K., Assoian R.K. Integrating the MAP kinase signal into the G1 phase cell cycle machinery // BioEssays. – 2000. – Vol. 22. – P. 818–826.

273. Schrag D., Weeks J. Costs and cost-effectiveness of colorectal cancer prevention and therapy // Semin. Oncol. – 1999. – Vol. 26. – P. 561–568.

274. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on ColorectalCancer, and the American College of Radiology / B. Levin, D.A. Lieberman, B. McFarland [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134. – P. 1570–1595.

275. Selective cellular acidification and toxicity of weak organic acids in an acidic microenvironment / A.R. Karuri [et al.] // Br J Cancer. – 1993. – Vol. 68 (6). – P. 1080–1087.

276. Serrated polyps of the colon and rectum and serrated polyposis. In book: WHO classification of tumours of the digestive system / D.C. Snover, D.J. Ahnen, R.W. Burt, R.D. Odze; F.T. Bosman, F. Carneiro, R.H. Hruban [et al.] (eds.). – Lyon, France: IARC, 2010. – P. 160–165.

277. Serum insulin-like growth factor I and subsequent risk of colorectal cancer among Japanese-American men / A.M. Nomura, G.N. Stemmermann, J. Lee, M.N. Pollak // Am J Epidemiol. – 2003. – Vol. 158, № 5. – P. 424–431.

278. Serum levels of IGF-I, IGFBP-3 and colorectal cancer risk: results from the EPIC cohort, plus a meta-analysis of prospective studies / S. Rinaldi, R. Cleveland, T. Norat [et al.] // Int J Cancer. – 2010. – Vol. 126, № 7. – P. 1702–1715.

279. Shevach E.M. CD4+CD25+suppressor T cells: More questions than answers // Nat. Rev. Immunol. – 2002. – Vol. 2. – P. 389–400.

280. Shevach E.M. Fatal attraction: Tumors beckon regulatory T cells // Nat. Med. – 2002. – Vol. 10. – P. 900–901.

281. Sherr C.J., Roberts J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression // Gen. Dev. – 1999. – Vol. 13. – P. 1501–1512.

282. Shuster C.W. Effects of oxidized fatty acids on ascites tumor metabolism // Biology & Medecine. – 1958. – Vol. 90, № 3. – P. 423–426.

283. Sidransky D. Emerging molecular markers of cancer // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – Vol. 2. – P. 210–219.

284. Signalling pathways in vasculogenic mimicry / Y.W. Paulis, P.M. Soetekouw, H.M. Verheul, V.C. Tjan-Heijnen [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2010. – Vol. 1806, № 1. – P. 18–28.

285. Skin human papillomavirus type 38 alters p53 functions by accumulation of deltaNp73 / R. Accardi, W. Dong, A. Smet [et al.] // EMBO Rep. – 2006. – Vol. 7. – P. 334–340.

286. Stambolic V., Mark T.W., Woodgett J.R. Modulation of cellular apoptotic potential: contributions to oncogenesis // Oncogene. – 1999. – Vol. 18. – P. 6094–6103.

287. Stratton M.R., Campbell P.J., Futreal P.A. The cancer genome // Nature. – 2009. – Vol. 458, № 7239. – P. 719–724.

288. Szatrowski T.P. Production of Large Amounts of Hydrogen Peroxide by Human Tumor Cells // Cancer Research. – 1991. – Vol. 51, № 3. – P. 794–798.

289. Takahashi M., Wakabayashi K. Gene mutations and altered gene expression in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rodents // Cancer Sci. – 2004. – Vol. 95. – P. 475–480.

290. Tammela T., Alitalo K. Lymphangiogenesis: Molecular Mechanisms and Future Promise // Cell. – 2010. – Vol. 140. – P. 460–476.

291. Tanaka T. Colorectal carcinogenesis: review of human and experimental animal studies // J. Carcinog. – 2009. – Vol. 8. – P. 5–15.

292. Telomere lengthening early in development / L. Liu, S.M. Bailey, M. Okuka [et al.] // Nat. Cell. Biol. – 2007. – Vol. 9. – P. 1436–1441.

293. Teodoro J.G., Evans S.K., Green M.R. Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome // J Mol Med. – 2007. – Vol. 85, № 11. – P. 1175–86.

294. The E6 oncoproteins from human betapapillomaviruses differentially activate telomerase through an E6AP-dependent mechanism and prolong the lifespan of

primary keratinocytes / K.M. Bedard, M.P. Underbrink, H.L. Howie, D.A. Galloway // J Virol. – 2008. – Vol. 82. – P. 3894–3902.

295. The insulin-like growth factor system and colorectal cancer: clinical and experimental evidence / M. Davies, S. Gupta, G. Goldspink, M. Winslet // Int J Colorectal Dis. – 2006. – Vol. 21, № 3. – P. 201–208.

296. The NLR gene family: a standard nomenclature / J. Ting, R. Lovering, E. Alnemri [et al.] // Immunity. – 2008.– Vol. 28.– P. 285–287.

297. The origin and mechanism of circulating DNA / M. Stroun, P. Maurice, V. Vasioukhin [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2000. – Vol. 906. – P. 161–168.

298. The regulatory role of Valpha14 NKT cells in innate and acquired immune response / M. Taniguchi, M. Harada, S. Kojo [et al.] // Annu. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 21. – P. 483–513.

299. The role of the insulin-like growth factor system in colorectal cancer: review of current knowledge / R. Durai, W. Yang, S. Gupta [et al.] // Int J Colorectal Dis. – 2005. – Vol. 20, № 3. – P. 203–220.

300. The role of the organ microenvironment in the biology and therapy of cancer metastasis / Fidler I.J. [et al.] // J Cell Biochem. – 2007. – Vol. 101 (4). – P. 927–936.

301. Thiery J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression // Nat Rev Cancer. – 2002. – Vol. 2. – P. 442–454. [CrossRef][ISI][Medline]

302. Thirteenyear, long-term efficacy of interferon-alpha and interleukin-based home therapy in patients with advanced renal cell carcinoma / J. Atzpodien, R. Hoffmann, M. Franzke [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2004. – Vol. 22. – P. 7–8.

303. Tumour immunity: effector response to tumour and role of the microenvironment / A. Mantovani [et al.] // Lancet. – 2008. – Vol. 371, № 9614. – P. 771–83.

304. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cells protection from tumor metastases

/ M. Smyth, E. Gretney, K. Takeda [et al.] // J. Exp. Med. – 2001. – Vol. 193. – P. 661–670.

305. Tumor progression and oxidantantioxidant status / M. Gerber [et al.] // Cancer Letters. – 1997. – Vol. 114, № 1-2. – P. 211–214.

306. Tumor signaling to the bone marrow changes the phenotype of monocytes and pulmonary macrophages during urethane-induced primary lung tumorigenesis in A/J mice / Redente E.F. [et al.] // Am J Pathol. – 2007. – Vol. 170, № 2. – P. 693–708.

307. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in patients with colorectal cancer / M. Vidaurreta, R. Sánchez-Muñoz, S. Veganzones, S. Rafael [et al.] // Rev Espen Ferm Dig. – 2010. – Vol. 102, № 1. – P. 20–31.

308. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma / M. Hendrix, E. Seftor, A. Hess, R. Seftor // Nat Rev Cancer. – 2003. – Vol. 3. – P. 411–421.

309. Vaupel P., Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome // Cancer Metastasis Rev. – 2007. – Vol. 26, № 2. – P. 225–239.

310. VEGF expression in the colorectal adenoma-carcinoma sequence / L. Kaklamanis, M. Trichas, K. Amarantidis, N. Spathari [et al.] // Oncol Res. – 2006. – Vol. 15, № 9. – P. 445–451.

311. Von Sonntag C. The Chemical Basis of Radiation Biology. – L., 1987. – P. 353–374.

312. Waris G., Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and variors chronic conditions // Journal of Cancerogenesis. – 2006. – № 5. – P. 14–22.

313. Weinhouse S. Isoenzymes in cancer // Cancer Research. – 1971. – Vol. 31, № 8. – P. 1166–1167.

314. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? / ed. J. Folkman. – L.: Oxford University Press, 1990. – P. 4–7.

315. Yamamoto M, Nakama H. Cost-effectivenes analysis of immunochemical occult blood screening for colorectal cancer among three fecal sampling methods // Hepatogastroenterology. – 2000. – Vol. 47, № 32. – P. 396–399.

316. Yap A.S. The morphogenetic role of cadherin cell adhesion molecules in human cancer: a thematic review // Cancer Investigation. – 1998. – Vol. 1. – P. 20

317. Zarember K., Godowski P. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines // J. Immunol.– 2002.– Vol. 168.– P. 554–561.

318. Zhu L., Skoultchi A. I. Coordinating cell proliferation and differentiation // Curr. Opin. Genet. Dev. – 2001. – Vol. 11. – P. 91–97.

319. Zou W. Immunosuppressive networks in the tumor environment and their therapeutic relevance // Nat. Rev. Cancer. – 2005. – Vol. 5. – P. 263–274.

320. Zou W. Regulatory T cells, tumor immunity and immunotherapy // Nat. Rev. Immunol. – 2006. – Vol. 6. – P. 295– 307.

321. Zur Hausen H. Human papillomavirus & cervical cancer // Indian J Med Res. – 2009. – Sep. – Vol. 130, № 3. – P. 209.

322. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference / M. Levy, M. Fink, J. Marshall [et al.] // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31.– P. 1250–1256.