

THE APPLICATIONS OF BIOANTIOXIDANTS AT LIPIDS AND CARBOHYDRATE METABOLIC IMBALANCES

Olga Nikolaevna KRIVOSHAPKO, Alexander Michaelovich POPOV, Alexander Alexeevich ARTYUKOV

Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS, Vladivostok

In present work the medical-preventive activities of natural antioxidants echinochrome A from flat sea urchin *Scaphechinus mirabilis* and polyphenolic preparation «Luromarin», developed on a basis rosmarinic acid and luteolin, 9:1(w/w) to carbohydrate and lipid metabolic imbalances, were studied. On experimental model atherosclerosis and diabetes was shown that these antioxidant preparations possess of high medical-preventive activity. The supposed mechanisms of the action of antioxidants studied are presented. On the base these preparations expected design of new supplements and medicines.

Keywords: echinochrome A, rosmarinic acid, luteolin, hyperlipidemia, alloxan diabetes

Krivoshapko O.N. – junior scientist, e-mail: popovam@piboc.dvo.ru

Popov A.M. – Doct. Biol. Sci., Head group research supplements

Artyukov A.A. – Cand. Chem. Sci., manager of lab. biotechnologie

УДК 616.994 18

СОДЕРЖАНИЕ ГЛУТАТИОНА И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЕГО МЕТАБОЛИЗМА В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ И ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

¹Елена Владимировна КУДРЯШОВА, ²Надежда Митрофановна ТИТОВА

¹*Хакасский государственный университет им. Н.Ф.Катанова, Абакан*

²*Сибирский федеральный университет, Красноярск*

Изучено содержание глутатиона и активность ферментов его метаболизма в злокачественных опухолях и эритроцитах больных раком легкого. Обнаружены высокий уровень глутатиона и повышенная активность глутатионзависимых ферментов в злокачественных клетках по сравнению с соответствующими нормальными клетками и низкий уровень исследуемых компонентов данной защитной системы в эритроцитах больных раком легкого. Исследование данной защитной системы в эритроцитах и опухолевых клетках больных раком легкого можно использовать для улучшения диагностики и оценки эффективности лечения больных со злокачественными опухолями.

Ключевые слова: рак легкого, глутатион, глутатионзависимые ферменты, злокачественные опухоли, эритроциты

Рак легкого (РЛ) – одна из основных проблем современной клинической онкологии. Несмотря на активную разработку вопросов предупреждения, диагностики и лечения, именно рак легкого занимает первое место в структуре онкологической смертности населения.

Известно, что в патогенезе злокачественной

трансформации важную роль играет свободнорадикальное воздействие на клетки. Такие этиологические факторы как курение и нарушение экологического окружения приводят к образованию свободных радикалов, обладающих генотоксическим эффектом и способствующих малигнизации эпителия бронхов и легкого. Повышенная продукция ак-

Кудряшова Е.В. – аспирант Сибирского федерального университета, зав. лаб. изучения типовых патологических процессов, e-mail: el.kud@mail.ru

Титова Н.М. – к.б.н., профессор

Таблица 1

Содержание восстановленного глутатиона и активность ферментов его метаболизма в эритроцитах здоровых людей и больных раком легкого (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы обследованных	Исследуемые показатели АОС			
	ГSH (мкмоль/гНв)	ГПО (мкмоль/мин*г Нв)	ГST (ммоль/мин*г Нв)	ГР (мкЕ/гНв)
	Me C ₂₅ -C ₇₅			
Контрольная группа (n=31)	4,57 3,03-5,74	7,66 6,45-9,70	0,95 0,76-1,05	463,03 59,47-1028,53
Рак легкого (n=189)	1,37 0,82-2,50 p<0,001	0,56 0,34-1,30 p<0,001	0,09 0,06-0,20 p<0,001	543,58 350,78-1036,60

Примечание: p – достоверность различия данного показателя с контрольной группой

тивных кислородных метаболитов макрофагами и нейтрофилами при хроническом воспалении бронхов также может привести к развитию бронхолегочной дисплазии с последующей злокачественной трансформацией.

В настоящее время состояние антиоксидантной системы (АОС) организма рассматривается как один из ранних маркеров оксидативного поражения клеток. Одним из методов оценки степени нарушения функционирования АОС является исследование содержания и активностей входящих в ее состав компонентов. Однако выраженность и направленность изменений АОС опухолевых клеток и АОС организма опухоленосителя при хронических заболеваниях легких с диспластическими изменениями изучены недостаточно.

Целью исследования явилось сравнительное изучение уровня восстановленного глутатиона (ГSH) и активности ферментов его метаболизма: глутатион-S-трансферазы (ГST), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) в эритроцитах больных раком легкого и в клетках здоровой и опухолевой ткани легкого у данной категории лиц.

На базе торакального отделения Краевого онкологического диспансера (г. Красноярск) обследовано 192 больных в возрасте 31-70 лет, страдающих раком легкого. Кровь для исследования забирали из локтевой вены при поступлении больных в стационар. В качестве контроля обследованы здоровые доноры аналогичного возраста в количестве 31

человека. Образцы опухолевой и здоровой ткани легкого были отобраны в процессе хирургического вмешательства.

Содержание ГSH определяли по методу E. Beutler [1]. Мерой активности ГПО служила скорость окисления ГSH в присутствии гидроперекиси третбутила [2]. Активность ГST определяли по скорости образования глутатион-S-конъюгатов между ГSH и 1-хлор-2,4-динитробензолом [3]. Исследование данных показателей АОС проводили спектрофотометрическим методом. Определение активности ГР осуществляли билюминесцентным методом [4]. По результатам исследования была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакетов прикладных программ SPSS 10,0 и Statistica 6,0 производился статистический анализ. Для всех данных определяли медиану (Me) и интерквартильный размах в виде 25 и 75 перцентилей (C₂₅ и C₇₅). Проверку гипотезы о статистической достоверности исследуемых показателей эритроцитов у здоровых людей и больных раком легкого проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Сравнение величин уровней активности изучаемых компонентов АОС здоровой ткани и опухолевой ткани легкого осуществляли по критерию Вилкоксона.

При исследовании глутатионового звена АОС эритроцитов обнаружено, что у больных раком легкого снижена концентрация ГSH и активности ГПО и ГST, но повышена активность ГР (табл.1).

Содержание ГSH в эритроцитах больных РЛ

Содержание восстановленного глутатиона и активность ферментов его метаболизма в здоровой и в опухолевой тканях легкого у больных раком легкого (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы обследованных	Исследуемые показатели АОС			
	ГSH (мкмоль/г белка)	ГПО (мкмоль/мин*г белка)	GST (ммоль/мин*г белка)	ГР (мкЕ/мг белка)
	Me C ₂₅ -C ₇₅			
Здоровая ткань легкого (n=192)	5,36 2,71-8,69	3,49 0,83-7,69	7,50 3,66-13,14	779,32 10,98-35880,18
Опухолевая ткань легкого (n=146)	8,99 4,47-14,37 p<0,001	6,38 1,84-15,03 p<0,05	15,13 8,04-26,44 p<0,001	740,61 10,86-31619,53

Примечание: p – достоверность различия данного показателя с контрольной группой

составляет только 30 % от концентрации этого же компонента в эритроцитах относительно здоровых людей (p<0,001). Практически полностью (на 92,7 %) угнетена активность ГПО по сравнению с контрольным значением (p<0,001). Отмечено также выраженное снижение (на 90,6 %) активности GST в эритроцитах больных РЛ по сравнению с контрольной группой (p<0,001). Активность ГР – фермента, участвующего в восстановлении окисленной формы глутатиона, повысилась в эритроцитах больных РЛ на 17,4 % по сравнению с активностью этого фермента в группе здоровых доноров, но данное различие не является статистически значимым.

В целом, анализ показателей АОС в эритроцитах больных РЛ выявил, что изменения величин АОС носят в основном однонаправленный характер и определяются, прежде всего, пониженным содержанием и пониженной активностью исследуемых компонентов системы антиокисления крови.

Изучение антиоксидантного статуса опухоли, напротив, позволило выявить активацию глутатионового звена АОС в опухолевых клетках при раке легкого (табл. 2).

При исследовании уровня восстановленного глутатиона в здоровой и в опухолевой ткани легкого обнаружено, что концентрация ГSH в опухолевой ткани достоверно (p<0,001) на 67 % превышает значение этого же показателя в здоровой ткани. Анализ активности ГПО в здоровой и опухолевой ткани легкого показал, что у больных раком легкого

его активность фермента на 82,8 % превалирует над значениями в контрольной группе (p<0,05). Помимо этого в опухолевой ткани происходит активация и другого фермента метаболизма глутатиона – GST. Активность GST в 2 раза превышает контрольные значения (p<0,001). В отличие от ГПО и GST активность ГР снижена на 5 % в опухолевой ткани легкого, однако данное различие не имеет статистической значимости.

В целом можно отметить, что антиоксидантный статус опухоли у больных РЛ характеризуется однонаправленными изменениями таких показателей АОС, как ГSH, GST и ГПО. Резюмируя изложенное, можно заключить, что у больных РЛ происходит угнетение глутатионового звена важнейшей адаптивной системы организма, что выражается в снижении содержания низкомолекулярных компонентов и угнетении активностей ферментов АОС крови. При этом клетки самой опухоли, напротив, характеризуются активацией ключевых ферментов данной защитной системы, а также повышенным содержанием ГSH.

Литература

1. Beutler E. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods. New York; London; Tokio: Grune & Stratton, 1990. 188 p.
2. Paglia D.E., Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // J. Clin. Lab. Med. 1967. 70 (3): 158–169.

3. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first enzymes step mercapturic acid formation // J.Biol. Chem. 1974. 249 (22): 7130–7139.

4. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека билюминесцент-

ным методом // Лаб. дело. 1989. 11: 23–25.

Savchenko A.A., Sunsova L.N. Highsensitive evaluation of dehydrogenase activity in human peripheral blood lymphocytes by bioluminescent method // Lab. case. 1989. 11: 23–25.

GLUTATHION CONCENTRATIONS AND ENZYMES ACTIVITY OF ITS METABOLISM IN MALIGNANT TUMORS AND RED BLOOD CELLS IN LUNG CANCER PATIENTS

Elena Vladimirovna KUDRYASHOVA, Nadezhda Mitrophanovna TITOVA

*The Khakas State University named after N.F. Katanov, Abakan
The Siberian Federal University, Krasnoyarsk*

Glutathione concentrations and activity of glutathione metabolism enzymes were studied in malignant tumor tissue and red blood cells from patients with lung cancer. A high level of glutathione and high activities of the glutathione-dependent enzymes were found in the malignant cells than in the corresponding normal tissues and low level this component of this protective system in red blood cells in patients with lung cancer. The investigation of this protective system in red blood cells and malignant tumor tissue from patients with lung cancer may be used to improve the diagnosis and evaluation of the efficiency of treatment in patients with malignant tumors.

Key words: lung cancer, glutathione, glutathoin-dependent enzymes, malignant tumors, red blood cells

Kudryashova E.V. – post-graduate student of Siberian Federal University, head of lab. of standart pathological processes research, e-mail: el.kud@mail.ru

Titova N.M. – Cand. Biol. Sci., professor