

УДК 616-008:616-006.04:611.81-06

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНИ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА И МЕТАСТАЗОВ РАКА РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ В ГОЛОВНОЙ МОЗГ

© 2011 г. Ю.А. Позорелова, Е.М. Францияни, И.В. Баязин, Е.Ф. Комарова, Н.Д. Черярина

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт
14 линия, 63, г. Ростов н/Д, 344037,
rnoi@list.ru

Rostov Research Cancer Institute,
14 Line, 63, Rostov-on-Don, 344037,
rnoi@list.ru

Целью исследования явилось сравнительное изучение некоторых показателей активности ПОЛ в ткани первичных злокачественных опухолей мозга и ткани метастазов в мозг. Показано, что развитие первичных злокачественных глиом и метастазов рака различной локализации, развивающихся на территории головного мозга, имеет общие биохимические механизмы. Отмечен более агрессивный «метаболический» характер метастазов рака различной локализации в головной мозг по сравнению со злокачественными глиомами.

Ключевые слова: свободнорадикальные процессы, опухоль мозга, метастазы в мозг.

The research objective was a comparative studying of some indicators of the lipid peroxidation activity in the tissue of primary malignant tumours of the brain and the tissue metastases in the brain. The development of primary malignant gliomas and various localization cancer metastases is shown to develop on the brain area that has general biochemical mechanisms. The "metabolic" character of the various localization cancer metastases in the brain is noted to be more aggressive than those with malignant gliomas.

Keywords: free radical processes, brain tumour, metastases in the brain.

Несмотря на огромный фактический материал, до конца не известен механизм инвазии и метастазирования опухолевых клеток в мозг. Неизвестна и наиболее характерная физико-химическая ситуация для метастазирования или особенность клеток метастазов, причастная к этому процессу.

В поисках специфического внутриклеточного признака, контролируемого в нормальных условиях и неконтролируемого при раке и обеспечивающего инвазию и метастазирование опухолей, исследователи обращаются, прежде всего, к перекисно-кислородной теории [1]. Одним из основных положений этой теории является необходимость возникновения умеренной гипероксии для окислительного митогенеза нормальных клеток и повышенной гипероксии для их малигнизации и функционирования в качестве неопластических.

В этих случаях окислительный стресс влияет на упрочение поверхностных структур клеток, снижение их адгезивных свойств, что является необходимым условием как для пролиферации опухоли, так и для протекания процесса метастазирования неоплазмы.

Важную роль кислородно-перекисной составляющей в механизмах инвазии и метастазирования подтверждает тот факт, что клетки, взятые из гипоксических участков экспериментальных солидных опухолей фибросаркомы, карциномы и меланомы после реоксигенации, метастазировали в 1,5–3,5 раза эффек-

тивнее, чем клетки, находившиеся в аэробных условиях [2]. Первичные и вторичные опухоли ЦНС представляют особый интерес, связанный с наличием гематоэнцефалического барьера, обеспечивающего известную защитную изолированность мозга: во-первых, затруднено проникновение в нервную систему опухолевых клеток из внутренних органов, во-вторых, первичные опухоли мозга, как правило, не распространяются за его пределы. С другой стороны, наиболее благоприятные условия для развития свободнорадикальной патологии имеются именно в мозге, в ЦНС в целом. Это обусловлено высоким по сравнению с другими органами содержанием липидов и максимальным потреблением кислорода [3].

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение некоторых показателей активности ПОЛ в ткани первичных злокачественных опухолей мозга и ткани метастазов в мозг.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы тканей опухолей и их перифокальной зоны: 14 – анапластические глиомы, 16 – доброкачественные астроцитомы, а также ткани метастазов в мозг, 15 – рака молочной железы, 14 – рака легкого, 13 – рака почки, 16 – меланомы кожи. В образцах тканей были изучены

некоторые показатели, характеризующие активность свободнорадикальных процессов: уровень содержания витаминов Е и А [4], коэффициент их соотношения, малоновый диальдегид (МДА) – один из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5], активность супероксиддисмутазы (СОД) [6], каталазы [7], суммарной пероксидазной активности (СПА) [8, 9], а также коэффициенты СОД/СПА и СОД/каталаза, характеризующие работу физиологического каскада антиокислительных ферментов.

Проводился забор массы перифокальной ткани (детрита) в пределах здоровых тканей, в функционально значимых зонах головного мозга перифокальную зону не удаляли. Способ одобрен Этическим комитетом ФГУ «РНИОИ Росмедтехнологий», протокол

№042 от 12.05.2009 г. Данный способ забора перифокальной ткани описан С.А. Усатовым, М.М. Наим, Н.И. Адамчо [10].

Статистическая обработка проводилась согласно общепринятым методикам с помощью параметрического (по критерию Стьюдента) метода [11].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что активность СОД в ткани злокачественных астроцитом и метастазов рака молочной железы, легкого и почки в головной мозг достоверно не отличались друг от друга и были на 25, 22,5, 23 и 21 % соответственно выше, чем показатели в их перифокальных зонах (табл. 1).

Таблица 1

Показатели ферментативной антиокислительной активности тканей при различных новообразованиях головного мозга

Объект исследования	Исследуемые показатели									
	СОД, ед./г тк		СПА, ед.акт/г тк		Каталаза, ед.акт/г тк		Коэф., СОД/СПА		Коэф., СОД/Катал.	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Злокач. глиомы	364,3± ±57,1	455,1± ±44,7	0,71± ±0,08	0,43± ±0,06 ²	51,3± ±4,8	92,1± ±7,3 ²	513,1± ±43,8	1125,3± ±85,3 ²	7,0± ±0,5	4,9± ±0,5 ²
Доброкач. глиомы	367,5± ±25,7	331,7± ±24,5 ¹	0,8± ±0,08	0,45± ±0,03 ²	49,3± ±3,6	87,1± ±6,4 ²	459,4± ±34,3	737,3± ±65,8 ^{1,2}	7,5± ±0,6	3,8± ±0,4 ²
Mts рака молочной железы	387,5± ±34,6	473,1± ±32,4 ²	0,81± ±0,06	0,34± ±0,05 ²	53,8± ±4,9	84,6± ±7,9 ²	478,0± ±44,3	1391,5± ±73,4 ^{1,2}	7,2± ±0,6	5,6± ±0,6 ²
Mts рака легкого	351,9± ±27,8	432,8± ±41,6 ²	0,78± ±0,07	0,31± ±0,06 ^{1,2}	48,9± ±4,3	71,5± ±6,5 ^{1,2}	451,2± ±36,9	1396,1± ±64,9 ^{1,2}	7,2± ±0,5	6,1± ±0,6
Mts меланомы кожи	396,8± ±37,7	746,8± ±69,3 ^{1,2}	0,65± ±0,06	0,22± ±0,04 ^{1,2}	47,6± ±4,9	101,3± ±9,1 ²	610,0± ±57,4	3394,5± ±113,8 ^{1,2}	8,3± ±0,8	7,4± ±0,7 ¹
Mts рака почки	359,3± ±31,5	465,0± ±41,5 ²	0,71± ±0,07	0,30± ±0,04 ^{1,2}	56,8± ±5,5	69,4± ±5,3 ^{1,2}	492,0± ±47,3	1550,0± ±96,8 ^{1,2}	6,3± ±0,6	6,7± ±0,7 ¹

Примечание. I – перифокальная зона опухоли; II – ткань новообразования мозга; ¹ – достоверно по отношению к показателям в злокачественных глиомах ($p \leq 0,05$); ² – достоверно по отношению к показателям в перифокальной зоне ($p \leq 0,05$).

Исключение составили метастазы меланомы кожи в головной мозг: активность СОД в них была на 88 % выше, чем в соответствующей перифокальной зоне, и в среднем на 60 % выше, чем в злокачественных глиомах и ткани метастазов других органов в головной мозг. СПА во всех исследуемых образцах тканей была сниженной относительно соответствующей перифокальной зоны: при глиомах – на 39,4 %, метастазах молочной железы – в 2,4 раза, метастазах рака легкого – в 2,5, метастазах меланомы кожи – в 3 и метастазах рака почки – в 2,4 раза. Активность каталазы в ткани злокачественных глиом превосходила таковую в соответствующей перифокальной зоне на 79,5 %, в ткани метастазов рака молочной железы – на 57,2, ткани метастазов рака легкого – на 46,2, рака почки – на 22,1 %, меланомы кожи – в 2,1 раза. В этой связи коэффициент СОД/СПА в ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг не только превосходил показатели в соответствующей перифокальной зоне, но и аналогичный показатель в ткани злокачественных глиом. Так, СОД/СПА в ткани метастазов молочной железы, легкого и почки был в среднем в 3 раза выше, чем в перифокальной зоне, а в ткани метастазов меланомы кожи – в 5,6 раза. Для сравнения мы изучили этот по-

казатель в ткани доброкачественных астроцитом, где он был в среднем в два раза ниже, чем в ткани метастазов рака молочной железы, легкого и почки и в 4,6 раза ниже, чем в ткани метастазов меланомы кожи.

Содержание витамина Е в ткани злокачественных глиом и ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг не различалось между собой и было практически одинаково снижено относительно соответствующей перифокальной зоны в среднем в 1,6 раза. Уровень витамина А в ткани злокачественных глиом и ткани метастазов также был практически одинаков, но повышен относительно показателей в каждой ткани перифокальной зоны: в злокачественных глиомах – в 4,5 раза, а в метастазах – в среднем в 1,8. Естественно, что и коэффициенты Е/А в ткани злокачественных новообразований головного мозга достоверно отличались от показателей в соответствующей перифокальной зоне (табл. 2).

Такое состояние элементов ферментативного и не ферментативного звеньев антиокислительной защиты ткани злокачественных новообразований указывало на возможность нерегулируемого протекания в ней свободнорадикальных процессов, особенно в ткани вто-

ричных опухолей. Это подтверждалось и повышенным содержанием в них одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА в ткани злокачественных новообразований по сравнению с аналогичными тканями доброкачественных глиом. Содержание МДА в злокачественных

глиомах было повышено в 2 раза, а в метастазах – в 3,5 (табл. 2). Аналогичные данные о повышении уровня МДА и снижении активности элементов антиоксидательной защиты в злокачественных глиомах были получены и другими авторами [12].

Таблица 2

Показатели активности свободнорадикальных процессов тканей при различных новообразованиях головного мозга

Объект исследования	Исследуемые показатели							
	Витамин Е, ед/г тк		Витамин А, ед/г тк		Коэф., Е/А		МДА, нМ/г тк	
	І	ІІ	І	ІІ	І	ІІ	І	ІІ
Злокач. глиомы	0,29±0,03	0,19±0,05 ²	0,03±0,004	0,09±0,002	9,5±2,8	2,7±0,3 ²	11,3±0,9	18,5±1,4 ²
Доброкач. глиомы	0,58±0,05 ¹	0,25±0,03 ²	0,16±0,02 ¹	0,1±0,02 ²	3,6±0,3 ¹	2,5±0,4 ²	8,7±0,6 ¹	9,2±0,8 ¹
Mts рака молочной железы	0,35±0,03	0,16±0,01 ²	0,05±0,005	0,07±0,004 ^{1,2}	7,0±0,5	2,3±0,2 ²	11,9±1,0	22,8±3,2 ²
Mts рака легкого	0,31±0,03	0,19±0,02 ²	0,04±0,004	0,06±0,006 ^{1,2}	7,8±0,7	3,2±0,3 ²	13,3±1,1	34,6±3,8 ^{1,2}
Mts меланомы кожи	0,29±0,02	0,24±0,02 ²	0,04±0,004	0,1±0,001 ²	7,3±0,7	2,4±0,2 ²	15,8±1,3 ¹	43,1±4,1 ^{1,2}
Mts рака почки	0,33±0,03	0,21±0,02 ²	0,05±0,005	0,09±0,008 ²	6,3±0,5	2,3±0,2 ²	14,2±1,2 ¹	29,7±3,1 ^{1,2}

Примечание. І – перифокальная зона опухоли; ІІ – ткань новообразования мозга; ¹ – достоверно по отношению к показателям в злокачественных глиомах ($p \leq 0,05$); ² – достоверно по отношению к показателям в перифокальной зоне ($p \leq 0,05$).

Эти результаты свидетельствуют о том, что развитие первичных злокачественных глиом и метастазов рака различной локализации на территории головного мозга имеет общие биохимические механизмы. Они заключаются в том, что повышенный уровень активных форм кислорода в клетках обеспечивается, по-видимому, нарушением митохондриального дыхания и соответственно слабой утилизацией молекулярного кислорода, возрастанием его парциального давления и усиления дисбаланса Δ (ПО-АО), необходимым для реализации кислородно-перекисного механизма роста и прогрессии неоплазм [1]. Возрастание уровня коэффициента СОД/СПА указывает на избыточное накопление в клетках мозга токсичной перекиси водорода вследствие недостаточной пероксидазной активности. При этом снижение активности пероксидаз, что мы и наблюдаем в ткани злокачественных неоплазм мозга, приводит не только к накоплению H_2O_2 , но и к нарушению обезвреживания органических, в том числе липидных, пероксидов, образующихся в органе при активации ПОЛ [13]. Весьма большое значение для поддержания антиоксидантного статуса ткани и организма в целом имеет уровень содержания витаминов А и Е. Увеличение уровня витамина А при одновременном снижении содержания витамина Е, найденное нами в ткани неоплазм головного мозга, указывает, с одной стороны на повреждение клеточных мембран, в том числе и лизосомальных, а с другой – на стимуляцию размножения клеток. Ретиноиды осуществляют гормоноподобный контроль регуляции процессов дифференциации и пролиферации клеток, стимулируя их в тканях разного генеза и выступая в качестве антагонистов глюкокортикоидов [14]. Одним из факторов, способствующих повышению пролиферативной активности циркулирующих злокачественных клеток, дающих начало метастазам, является смена гипоксического и гипероксического их окружения. Основным и наиболее вероятным моментом, предопределяющим такой феномен, является, по мнению Б.Н. Лю [1], деградация «лишних» митохондрий опухолевых клеток как известный приспособительный акт к условиям гипоксии. Исходно гипероксические опухолевые клетки с

ослабленным митохондриальным дыханием, оказавшись по мере роста неоплазмы в зоне кислородного голодания, лишаются части митохондрий для сохранения своей жизнедеятельности, что предполагает их меньшую агрессивность. Однако после реоксигенации в таких клетках в связи с существенным ограничением потребления кислорода возникает состояние относительной гипероксии, причем по уровню избыточного кислорода все клетки будут скорее всего гетерогенными. Часть клеток, по-видимому, будет подвергаться окислительной деструкции и погибать, а в других выживших реоксигенированных клетках выражено проявляются последствия активации ПОЛ, заключающиеся в возрастании метастатической активности. Предполагается, что в метастазирующих опухолях уровень пероксигеназного стресса несколько выше, чем в неметастазирующих.

Естественными регуляторами адаптационных реакций организма выступают биоактивные субстанции, продуцируемые гипоталамической системой, поэтому целесообразным представлялось проанализировать уровень активации свободнорадикальных процессов в тканях метастазов в зависимости от их месторасположения относительно гипоталамуса. Интерес представляло также изучение активности ПОЛ в зависимости от уровня прогрессирования метастатического процесса.

Было установлено, что метастазы, располагающиеся вблизи гипоталамуса, а также множественные метастазы носят более агрессивный характер. Это заключалось в более выраженном по сравнению с тканью неоплазмы, локализующейся вдали от гипоталамуса, либо по сравнению с одиночными метастазами дисбалансе Δ (ПО-АО). В ткани метастазов близко расположенных к гипоталамусу коэффициент СОД/СПА был на 45,5 % выше, чем в ткани метастазов, расположенных вдали от этого органа (табл. 3). При этом уровень содержания витамина Е во множественных метастазах и расположенных вблизи гипоталамуса был на 33,3 и 30,4 % соответственно ниже. В этих образцах изменялся и коэффициент Е/А, что указывало на большую нестабильность их клеточных мембран и повышенную окисляемость. Это сопровождалось накоплением в тка-

ни множественных метастазов и расположенных вблизи гипоталамуса МДА – на 71,1 и 29,7 % соответствен-

но выше, чем в ткани одиночных и расположенных вдали от этого органа (табл. 4).

Таблица 3

Показатели ферментативной антиокислительной активности ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг

Метастазы	Исследуемые показатели									
	СОД, ед./г тк		СПА, ед. акт./г тк		Каталаза, ед. акт./г тк		Коэф., СОД/СПА		Коэф., СОД/Катал.	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
В зависимости от количества метастатических узлов										
Одиночные (n=51)	328,1±19,6	546,8±29,7 ²	0,79±0,08	0,59±0,06 ²	46,9±4,5	72,9±7,4 ²	415,3±39,1	926,8±74,2 ²	7,0±0,5	7,5±0,6
Множественные (n=15)	379,6±24,7	539,3±31,2 ²	0,67±0,07	0,40±0,02 ^{1,2}	54,3±5,3	99,6±6,6 ^{1,2}	566,6±44,8 ¹	1348,3±121,6 ^{1,2}	7,0±0,3	5,4±0,5 ^{1,2}
В зависимости от расположения метастатических узлов										
Вблизи от гипоталамуса (n=17)	386,4±27,9	698,7±27,7 ²	0,66±0,02	0,39±0,04 ²	55,1±3,4	94,6±8,1 ²	586,0±37,2	1792,0±143,0 ²	7,0±0,7	7,4±0,7
Вдали от гипоталамуса (n=25)	337,8±22,6	442,9±41,3 ^{2,3}	0,8±0,06 ³	0,57±0,03 ^{2,3}	44,3±2,1 ³	73,8±6,5 ^{2,3}	422,0±39,9 ³	777,0±81,2 ^{2,3}	7,6±0,8	6,0±0,6 ^{2,3}

Примечание. I – перифокальная зона опухоли; II – ткань новообразования мозга; ¹ – достоверно по отношению к показателям при одиночных метастазах (p≤0,05); ² – достоверно по отношению к показателям в перифокальной зоне (p≤0,05); ³ – достоверно по отношению к показателям при расположении метастазов вблизи от гипоталамуса (p≤0,05).

Таблица 4

Показатели активности свободнорадикальных процессов ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг

Метастазы	Исследуемые показатели											
	Витамин Е, ед./г тк		Витамин А, ед./г тк		Коэф., Е/А		МДА, нМ/гк					
	I	II	I	II	I	II	I	II				
В зависимости от количества метастатических узлов												
Одиночные (n=51)	0,35±0,02		0,21±0,02 ²		0,04±0,004		0,08±0,005 ²		8,5±0,6	2,6±0,2 ²	12,8±1,3	24,6±2,7 ²
Множественные (n=15)	0,29±0,03 ¹		0,14±0,01 ^{1,2}		0,05±0,003		0,09±0,006 ²		5,8±0,6 ¹	1,6±0,2 ^{1,2}	14,3±1,4	42,1±3,9 ^{1,2}
В зависимости от расположения метастатических узлов												
Вблизи от гипоталамуса (n=17)	0,26±0,03		0,16±0,01 ²		0,05±0,004		0,09±0,007 ²		5,0±0,5	1,8±0,3 ²	13,9±1,4	41,9±3,5 ²
Вдали от гипоталамуса (n=25)	0,33±0,02 ³		0,23±0,02 ^{2,3}		0,04±0,003		0,07±0,005 ²		8,3±0,7 ³	3,3±0,2 ^{2,3}	12,5±1,3	32,3±2,4 ^{2,3}

Примечание. I – перифокальная зона опухоли; II – ткань новообразования мозга; ¹ – достоверно по отношению к показателям при одиночных метастазах (p≤0,05); ² – достоверно по отношению к показателям в перифокальной зоне (p≤0,05); ³ – достоверно по отношению к показателям при расположении метастазов вблизи от гипоталамуса (p≤0,05).

Полученные результаты состояния свободнорадикальных процессов в ткани метастазов коррелировали с тяжестью клинического состояния больных.

Выводы

Несмотря на общность биохимических механизмов развития как первичных, так и вторичных опухолей мозга отмечается более агрессивный «метаболический» характер метастазов рака различной локализации в головной мозг по сравнению со злокачественными глиомами.

Среди изученных нами метастазов по степени агрессивности можно выделить метастазы меланомы кожи в головной мозг, так как именно в этой ткани наблюдаются наиболее выраженные сдвиги в системе Δ (ПО-АО).

Литература

1. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (Кислородно-перекисная концепция). Алматы, 2003. 808 с.
2. Балицкий К.П., Шмалько Ю.П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. Киев, 1987. 245 с.

3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М., 2000. 344 с.
4. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витаминов Е и А в сыворотке крови // Лаб. дело. 1984. № 6. С. 362–365.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972. 252 с.
6. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971. Vol. 44. P. 276–281.
7. Метод определения активности каталазы / М.А. Корлюк [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–18.
8. Внуков В.В. Железосодержащие белки и протеолитическая активность сыворотки крови при гипоксии и защитном действии мочевины: дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1979.
9. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике // М., 1969. С. 349–351.
10. Усатов С.А., Наум М.М., Адамчо Н.И. Хирургическая тактика при глиобластомах головного мозга с учетом выраженности перифокального отека // Бюл. УАН. 1998. № 5. С. 127.

11. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград, 1973. 142 с.
12. Шарова Л.А. Процессы перекисного окисления липидов в опухолевой ткани у пациентов с онкологической патологией легких и головного мозга // Цитология. 1999. Т. 41, № 9. С. 782.
13. Cohen G. Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and cytochrom P-450 // Enzymes in the nervous system. 1983. № 4. P. 315–330.
14. Взаимосвязь кинетики перекисного окисления липидов сыворотки крови лабораторных животных и кинетики иммунологического ответа на введение эритроцитов барана / В.А. Барабой [и др.] // Докл. АН УССР. Сер. Биол. 1989. № 7. С. 57–59.

Поступила в редакцию

14 июля 2010 г.