

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНИ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА И МЕТАСТАЗОВ РАКА РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ В ГОЛОВНОЙ МОЗГ

УДК 541.515/57:616.831—006—06

Поступила 19.11.2010 г.



Ю.С. Сидоренко, д.м.н., профессор, академик РАН и РАМН, зам. директора по научной работе;
 И.В. Балязин-Парфенов, к.м.н., научный сотрудник отделения опухолей центральной нервной системы;
 Е.М. Франциянц, д.б.н., профессор, руководитель гормональной лаборатории;
 Е.Ф. Комарова, к.б.н., старший научный сотрудник гормональной лаборатории;
 Ю.А. Погорелова, научный сотрудник гормональной лаборатории;
 Н.Д. Черярина, врач гормональной лаборатории

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону

Цель исследования — изучение динамики некоторых показателей активности перекисного окисления липидов в ткани первичных злокачественных опухолей мозга и ткани метастазов в мозг с целью оптимизации лечения.

Материалы и методы. Исследованы образцы тканей опухолей (анapластические глиомы и доброкачественные астроцитомы) и их перифокальной зоны, взятые у больных интраоперационно при удалении опухолей, а также ткани метастазов в мозг (рака молочной железы, легкого, почки, меланомы кожи).

Результаты. Установлено, что развитие первичных злокачественных глиом и метастазов рака различной локализации, образующихся 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. Выявлено, что метастазы, располагающиеся вблизи гипоталамуса, а также множественные метастазы носят более агрессивный характер.

Ключевые слова: свободно-радикальные процессы, опухоль мозга, метастазы в мозг.

English

The assessment of dynamics of free radical processes in cerebral tumour tissue and brain metastases of various localizations

Y.S. Sidorenko, D.Med.Sc., Professor, Academician of RAS and RAMS, Deputy Director of Research Work;
 I.V. Balyazin-Parfyonov, PhD, Research Worker, the Department of Central Nervous System Tumours;
 E.M. Frantsiyants, D.Bio.Sc., Professor, Head of Hormonal Laboratory;
 E.F. Komarova, PhD, Senior Research Worker, Hormonal Laboratory;
 Y.A. Pogorelova, Research Worker, Hormonal Laboratory;
 N.D. Tchernyarina, Physician, Hormonal Laboratory

Rostov-on-Don Scientific Research Oncological Institute, Rostov-on-Don

The aim of the investigation is to study the dynamics of some activity indexes of lipid peroxidation in the tissue of primary cerebral tumours and brain metastases tumours for the purpose of treatment optimization.

Materials and Methods. There have been studied tumour tissue samples (anaplastic gliomas and benign astrocytomas) and their perifocal areas taken from the patients during the oncotomy operations and the surgeries on brain metastases tissues excision (breast cancer, lung cancer, renal cell carcinoma, skin melanoma).

Results. Primary malignancies and brain cancer metastases of various localization have been stated to have common biochemical mechanisms. There has been noticed the more aggressive “metabolic” nature of brain cancer metastases of various localization compared to malignant gliomas. The metastases near hypothalamus as well as multiple metastases have been revealed to be of more aggressive nature.

Key words: free radical processes, cerebral tumour, brain metastases.

Для контактов: Балязин-Парфенов Игорь Викторович, тел. раб. 8(863)295-53-62, тел. моб. +7 928-111-70-54;
 e-mail: balyazin-parfenov@yandex.ru.

Несмотря на огромный фактический материал, до конца не известен механизм инвазии и метастазирования опухолевых клеток в мозг. Не выявлены и наиболее характерные физико-химические условия, способствующие процессу метастазирования. В поисках специфического внутриклеточного признака, контролируемого в нормальных условиях и неконтролируемого при раке и обеспечивающего инвазию и метастазирование опухолей, исследователи обращаются прежде всего к кислородно-перекисной теории [1]. Одним из основных положений указанной 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 упрощение 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 эффективнее, чем клетки, находившиеся в аэробных условиях [2].

Первичные и вторичные опухоли ЦНС представляют особый интерес в связи 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 свободно-радикальной патологии имеются именно в мозге, в ЦНС в целом. Это обусловлено высоким по сравнению с другими органами содержанием липидов и максимальным потреблением кислорода [3].

Цель исследования — изучение динамики некоторых показателей активности перекисного окисления липидов в ткани первичных злокачественных опухолей мозга и ткани метастазов в мозг с целью оптимизации лечения.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили образцы тканей опухолей и их перифокальной зоны, взятые у больных интраоперационно при удалении опухолей (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 изучены показатели, характеризующие активность свободно-радикальных 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/

каталазы, характеризующие работу физиологического каскада антиокислительных ферментов.

Проводился забор массы перифокальной ткани (детрита) у больных в пределах здоровых тканей, в функционально значимых зонах головного мозга перифокальную зону не удаляли. Способ одобрен Этическим комитетом РНИОИ Минздравсоцразвития, протокол №042 от 12.05.2009 г. Данный способ забора перифокальной ткани описан С.А. Усатовым с соавт. [10].

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

Результаты и обсуждение. Установлено, что значения активности 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). 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, напротив, была сниженной относительно соответствующей перифокальной зоны: при глиомах — на 39,4%, метастазах молочной железы — в 2,4 раза, метастазах рака легкого — в 2,5 раза, метастазах меланомы кожи — в 3 раза 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%, метастазов рака легкого — на 46,2%, рака почки — на 22,1%, меланомы кожи — в 2,1 раза.

Коэффициент СОД/СПА в ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг превосходил не только показатели в соответствующей перифокальной зоне, но и аналогичный показатель в ткани злокачественных глиом. Так, в ткани метастазов молочной железы, легкого и почки он 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 показатель 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 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 (табл. 2). Уровень витамина А в ткани злокачественных глиом и ткани метастазов также был практически одинаков, но, напротив, повышен относительно показателей в каждой ткани перифокальной зоны: в злокачественных глиомах — в 4,5 раза, а в метастазах — в среднем в 1,8 раза. Естественно, что и коэффициенты Е/А в ткани злокачественных новообразований голов-

Таблица 1

Показатели ферментативной антиокислительной активности тканей при различных новообразованиях головного мозга

Объект исследования	СОД, ед./г ткани		СПА, ед. акт./г ткани		Каталаза, ед. акт./г ткани		СОД/СПА		СОД/каталаза	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Злокачественные глиомы	364,3±57,1	455,1±44,7	0,71±0,08	0,43±0,06*	51,3±4,8	92,1±7,3*	513,1±43,8	1125,3±85,3*	7,0±0,5	4,9±0,5*
Доброкачественные глиомы	367,5±25,7	331,7±24,5*	0,80±0,08	0,45±0,03*	49,3±3,6	87,1±6,4*	459,4±34,3	737,3±65,8**	7,5±0,6	3,8±0,4*
Метастазы рака молочной железы	387,5±34,6	473,1±32,4*	0,81±0,06	0,34±0,05*	53,8±4,9	84,6±7,9*	478,0±44,3	1391,5±73,4**	7,2±0,6	5,6±0,6*
Метастазы рака легкого	351,9±27,8	432,8±41,6*	0,78±0,07	0,31±0,06**	48,9±4,3	71,5±6,5**	451,2±36,9	1396,1±64,9**	7,2±0,5	6,1±0,6
Метастазы меланомы кожи	396,8±37,7	746,8±69,3**	0,65±0,06	0,22±0,04**	47,6±4,9	101,3±9,1*	610,0±57,4	3394,5±113,8**	8,3±0,8	7,4±0,7*
Метастазы рака почки	359,3±31,5	465,0±41,5*	0,71±0,07	0,30±0,04**	56,8±5,5	69,4±5,3**	492,0±47,3	1550,0±96,8**	6,3±0,6	6,7±0,7*

Примечания: I — перифокальная зона опухоли; II — ткань новообразования мозга; * — статистически значимые различия с показателями в злокачественных глиомах ($p \leq 0,05$); * — с показателями в перифокальной зоне ($p \leq 0,05$).

Таблица 2

Показатели активности свободно-радикальных процессов тканей при различных новообразованиях головного мозга

Объект исследования	Витамин Е, ед./г ткани		Витамин А, ед./г ткани		Е/А		МДА, нмоль/г ткани	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Злокачественные глиомы	0,29±0,03	0,19±0,05*	0,030±0,004	0,090±0,002	9,5±2,8	2,7±0,3*	11,3±0,9	18,5±1,4*
Доброкачественные глиомы	0,58±0,05*	0,25±0,03*	0,16±0,02*	0,10±0,02*	3,6±0,3*	2,5±0,4*	8,7±0,6*	9,2±0,8*
Метастазы рака молочной железы	0,35±0,03	0,16±0,01*	0,050±0,005	0,070±0,004**	7,0±0,5	2,3±0,2*	11,9±1,0	22,8±3,2*
Метастазы рака легкого	0,31±0,03	0,19±0,02*	0,040±0,004	0,060±0,006**	7,8±0,7	3,2±0,3*	13,3±1,1	34,6±3,8**
Метастазы меланомы кожи	0,29±0,02	0,24±0,02*	0,040±0,004	0,100±0,001*	7,3±0,7	2,4±0,2*	15,8±1,3*	43,1±4,1**
Метастазы рака почки	0,33±0,03	0,21±0,02*	0,050±0,005	0,090±0,008*	6,3±0,5	2,3±0,2*	14,2±1,2*	29,7±3,1**

Примечания: I — перифокальная зона опухоли; II — ткань новообразования мозга; * — статистически значимые различия с показателями в злокачественных глиомах ($p \leq 0,05$); * — с показателями в перифокальной зоне ($p \leq 0,05$).

ного мозга достоверно отличались от показателей в соответствующей перифокальной зоне.

Такое состояние элементов ферментативного и неферментативного звеньев антиокислительной защиты ткани злокачественных новообразований указывало на возможность нерегулируемого протекания в ней свободно-радикальных процессов, особенно выраженного в ткани вторичных 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. Так, содержание МДА в злокачественных глиомах было повышено в 2 раза, а в метастазах — в 3,5 раза (см. табл. 2). Аналогичные данные о повышении уровня МДА и снижении активности элементов антиокислительной защиты в злока-

чественных глиомах были получены и некоторыми авторами [12].

Такие результаты свидетельствуют о том, что развитие первичных злокачественных глиом и метастазов рака различной локализации, образующихся 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 усилением дисбаланса Δ (ПОЛ—АОА), необходимого для реализации кислородно-перекисного механизма роста и прогрессии неоплазм [1]. Увеличение коэффициента СОД/СПА указывает на избыточное накопление в клетках мозга токсичной перекиси водо-

рода 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 содержания витамина А при одновременном уменьшении — витамина Е, установленное 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. Известно, что 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 будут выражено проявляться последствия активации ПОЛ, заключающиеся в возрастании метастатической активности. Предполагается, что в метастазирующих опухолях уровень пероксигеназного стресса несколько выше, чем в неметастазирующих.

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

Установлено, что метастазы, располагающиеся вблизи гипоталамуса, а также множественные метастазы носят более агрессивный характер. Это проявлялось в более выраженном, по сравнению с тканью неоплазмы, локализуемой вдали от гипоталамуса, либо по сравнению с одиночными метастазами, дисбалансе Δ (ПОЛ—АОА). В ткани метастазов, близко расположенных к гипоталамусу, коэффициент СОД/СПА был на 45,5% выше, чем в ткани метастазов, расположенных вдали от него (табл. 3). При этом содержание витамина Е во множественных метастазах и метастазах, расположенных вблизи гипоталамуса, было на 33,3 и 30,4% соответственно ниже. Естественно, что в этих образцах изменялся и коэффициент Е/А, что указывало на большую нестабильность их клеточных мембран и повышенную окисляемость. Это сопровождалось накоплением в ткани множественных метастазов и метастазов, расположенных вблизи гипоталамуса, МДА — на 71,1 и

Таблица 3

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

Метастазы	СОД, ед./г ткани		СПА, ед. акт./г ткани		Каталаза, ед. акт./г ткани		СОД/СПА		СОД/каталаза	
	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*	0,79± 0,08	0,59± 0,06*	46,9± 4,5	72,9± 7,4*	415,3± 39,1	926,8± 74,2*	7,0± 0,5	7,5± 0,6
множественные (n=15)	379,6± 24,7	539,3± 31,2*	0,67± 0,07	0,40± 0,02**	54,3± 5,3	99,6± 6,6**	566,6± 44,8*	1348,3± 121,6**	7,0± 0,3	5,4± 0,5**
В зависимости от расположения метастатических узлов:										
вблизи от гипоталамуса (n=17)	386,4± 27,9	698,7± 27,7*	0,66± 0,02	0,39± 0,04*	55,1± 3,4	94,6± 8,1*	586,0± 37,2	1792,0± 143,0*	7,0± 0,7	7,4± 0,7
вдали от гипоталамуса (n=25)	337,8± 22,6	442,9± 41,3 ^v	0,80± 0,06 ^v	0,57± 0,03 ^v	44,3± 2,1 ^v	73,8± 6,5 ^v	422,0± 39,9 ^v	777,0± 81,2 ^v	7,6± 0,8	6,0± 0,6 ^v

Примечания: I — перифокальная зона опухоли; II — ткань новообразования мозга; * — статистически значимые различия с показателями при одиночных метастазах ($p \leq 0,05$); + — с показателями в перифокальной зоне ($p \leq 0,05$); ^v — с показателями при расположении метастазов вблизи от гипоталамуса ($p \leq 0,05$).

Таблица 4

Показатели активности свободно-радикальных процессов ткани метастазов рака различной локализации в головной мозг

Метастазы	Витамин Е, ед./г ткани		Витамин А, ед./г ткани		Е/А		МДА, нмоль/г ткани	
	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*	0,040±0,004	0,080±0,005*	8,5±0,6	2,6±0,2*	12,8±1,3	24,6±2,7*
множественные (n=15)	0,29±0,03*	0,14±0,01**	0,050±0,003	0,090±0,006*	5,8±0,6*	1,6±0,2**	14,3±1,4	42,1±3,9**
В зависимости от расположения метастатических узлов:								
вблизи от гипоталамуса (n=17)	0,26±0,03	0,16±0,01*	0,050±0,004	0,090±0,007*	5,0±0,5	1,8±0,3*	13,9±1,4	41,9±3,5*
вдали от гипоталамуса (n=25)	0,33±0,02 ^γ	0,23±0,02 ^{γν}	0,040±0,003	0,070±0,005*	8,3±0,7 ^γ	3,3±0,2 ^{γν}	12,5±1,3	32,3±2,4 ^{γν}

Примечания: I — перифокальная зона опухоли; II — ткань новообразования мозга; * — статистически значимые различия с показателями при одиночных метастазах (p≤0,05); + — с показателями в перифокальной зоне (p≤0,05); ^γ — с показателями при расположении метастазов вблизи от гипоталамуса (p≤0,05).

29,7% соответственно выше, чем в ткани одиночных и расположенных вдали от него метастазов (табл. 4).

Полученные результаты состояния свободно-радикальных процессов в ткани метастазов коррелировали с тяжестью клинического состояния больных.

Заключение. 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 по степени агрессивности можно выделить метастазы меланомы кожи, так как именно в этой ткани наблюдаются наиболее выраженные сдвиги в системе Δ (ПОЛ—АОА).

Литература

1. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы: КазНТУ; 2003; 808 с.
2. Балицкий К.П., Шмалько Ю.П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. Киев: Наукова думка; 1987; 245 с.
3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М: Знание-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: 362—365.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М: Наука; 1972; 252 с.
6. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem 1971; 44: 276—281.
7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. Лаб дело 1988; 1: 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.
10. Усатов С.А., Наим М.М., Адамчо Н.И. Хирургическая тактика при глиобластомах головного мозга с учетом выраженности перифокального отека. Бюллетень УАН 1999; 1: 5—9.
11. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л; 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; 41(9): 782.
13. Cohen G. Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and cytochrom P-450. In: Enzymes in the nervous system. N.Y., Oxford: Raven press; 1983; p. 315—330.
14. Барабой В.А., Гриневич Ю.А., Малышев В.А., Лукашова Р.Г. Взаимосвязь кинетики перекисного окисления липидов сыворотки крови лабораторных животных и кинетики иммунологического ответа на введение эритроцитов барана. Докл АН УССР. Серия биологическая 1989; 7; 57—59.