

УДК 612.015:591.553:616.831-006.484

Стан вільнорадикальних процесів та системи антиоксидантного захисту організму при гліомах головного мозку в клініці та експерименті

Розуменко В.Д., Суткової Д.А., Троян О.І., Дмитренко А.Б., Макарова Т.А.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України», м. Київ

Наведені дані літератури, у яких показано, що виникнення онкологічних захворювань головного мозку тісно пов'язане з дестабілізацією систем про- та антиоксидантного статусу в організмі хворих. Метою роботи було вивчення стану вільнорадикальних процесів та системи антиоксидантного захисту (АОЗ) у крові хворих з злоякісними пухлинами головного мозку, а також активності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та системи АОЗ в мозку і крові експериментальних тварин, яким перевитий у головний мозок штаб гліоми А-101.8. У крові хворих з пухлинами головного мозку відзначене підвищення активності ПОЛ та пригнічення активності ферментів системи АОЗ. В експериментальних дослідженнях встановлений кореляційний зв'язок між дестабілізацією ПОЛ у мозку і крові дослідних тварин та інтенсивністю росту пухлин як наслідок імплантації штабу гліоми А-101.8. У мозку хворих тварин на тлі достовірного підвищення активності ПОЛ спостерігали зниження активності системи АОЗ організму.

Ключові слова: головний мозок, гліальна пухлина, перекисне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту.

Вступ. Одними з найбільш поширених захворювань головного мозку, які потребують нейрохірургічного лікування, є пухлини. Встановлено, що виникнення та прогресування онкологічних захворювань тісно пов'язані з дестабілізацією процесів ПОЛ, що проявляється активним, неконтрольованим перерозподілом активності перекисно-окисних та антиоксидантних реакцій в тканинах організму хворого [8, 11, 15]. Вільнорадикальні реакції ПОЛ, які відбуваються в ліпідному шарі біологічних мембран, відіграють важливу роль у механізмі злоякісної трансформації [3, 9], а зміни окиснювально-антиоксидантного гомеостазу супроводжують процес канцерогенезу на всіх етапах малігнізації: ініціації, промоції та прогресії [1, 3, 12–15]. Продукти ПОЛ та вільні радикали спричиняють виникнення хромосомних аберацій та прогресування онкогенних мутацій, а порушення процесів ПОЛ є важливим чинником патогенезу, що зумовлює метаболічну активацію канцерогенів та сприяє росту пухлин на всіх стадіях онкогенезу. Проте, єдиної точки зору щодо стану вільнорадикального ПОЛ та антиоксидантного гомеостазу при онкологічних захворюваннях головного мозку немає. В роботі наведені дані клініко-біохімічних досліджень, які характеризують стан вільнорадикальних процесів ПОЛ та активність системи АОЗ в крові хворих з злоякісними пухлинами головного мозку, зокрема, при гліальній трансформації, а також наведені експериментальні дані, що характеризують про- та антиоксидантний статус в крові та мозку дослідних тварин, яким перевито у головний мозок гліому штабу А-101.8.

Мета роботи: вивчити стан вільнорадикальних процесів ПОЛ та системи АОЗ у крові хворих з злоякісними пухлинами головного мозку, а також в експерименті на тваринах, яким перевито гліому штабу А-101.8.

Матеріали і методи дослідження. Інтенсивність ПОЛ та стан системи АОЗ визначали в плазмі крові 34 хворих з внутрішньомозковими пухлинами (гліобластома ІV ступеня злоякісності — 18 зразків, анапластична астроцитома ІІІ ступеня злоякісності

— 16 зразків) та у 48 дослідних білих щурів-самців. Клініко-біохімічні дослідження у хворих проводили до початку консервативного та нейрохірургічного лікування. Як контрольні показники, що характеризували перебіг реакцій ПОЛ за фізіологічних умов, використовували показники активності процесів ПОЛ в плазмі крові 20 здорових осіб — донорів. Для дослідження використовували гепаринізовану плазму крові людей, а також гомогенат тканини головного мозку та плазму крові дослідних тварин. Активність процесів ПОЛ та стан системи АОЗ оцінювали з використанням наступних показників:

– рівень малонового діальдегіду (МДА) — одного з основних продуктів ПОЛ, який визначали за вмістом ТБК-активних продуктів [10];

– активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази — ключових ферментів системи АОЗ [6];

– інтенсивність індукованої хемілюмінесценції (ІХЛ) плазми крові, що дозволяє кількісно оцінити співвідношення про- та антиоксидантних складових процесів ПОЛ [2];

– загальна антиоксидантна активність (АОА) крові [5].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням критерію Ст'юдента-Фішера.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження реакцій ПОЛ та стану системи АОЗ у плазмі крові хворих із внутрішньомозковими пухлинами наведені у таблиці. Отримані дані свідчать про істотне (на 22%) зниження у плазмі крові хворих з гліальними пухлинами рівня ТБК-активних продуктів на тлі зниження активності ключових ферментів системи АОЗ: СОД — на 40%, каталази — на 30%, загальної АОА — на 14%.

Про значне активування процесів ПОЛ у крові хворих з пухлинами головного мозку свідчили показники інтенсивності ІХЛ, які у крові хворих становили 559,8% відносно такої у донорів (у плазмі осіб контрольної групи — 456 ім.п./с, у плазмі крові хворих з пухлинами мозку — 2553 ім.п./с). Імовірно, це пов'язане з пригніченням функцій гіпофізу у зв'язку з

Таблиця. Показники вільнорадикального ПОЛ та системи АОЗ у плазмі хворих з злоякісними гліальними пухлинами

Показник	Величина показника у групах (M±m)	
	здорових донорів (n=20)	хворих з гліальними пухлинами (n=34)
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	1,33±0,05	1,04±0,1*
ТБК-активні продукти, % від показників у контрольній групі	—	78
СОД, ум.од. екстинкції/мг білка за 10 хв	12,7±1,03	7,68±0,72
СОД, % від показника у контрольній групі	—	60
Каталаза, мкат/л	15,61±0,82	10,85±0,91*
Каталаза, % від показника у контрольній групі	—	70
Загальна АОА, %	43±4	36,9±5,45
АОА, % від показника у контрольній групі	—	86

Примітка * — різниця показників достовірна у порівнянні з такими у контрольній групі (P<0,05).

інтенсивним ростом пухлини і, як наслідок, зменшенням синтезу та секреції адренкортикотропного гормону (АКТГ). Зменшення вмісту АКТГ зумовлювало пригнічення функції надниркових залоз, їх аутоліз і, відповідно, зниження рівня кортикостероїдів, які відіграють важливу роль у процесі гальмування ІХЛ. Кортикостероїди виконують функцію не тільки антиоксидантів, вони є сполуками, що активно поглинають світіння видимої частини спектру, яка емісується при перекисно-окиснювальних процесах [4]. Тому зниження рівня кортикостероїдів при виникненні та прогресуванні онкологічного захворювання ЦНС супроводжується підвищенням активності ІХЛ. Це має важливе значення у діагностиці пухлин ЦНС і може бути використане на етапах обстеження та лікування хворих онкологічного профілю. Аналізуючи результати (рис. 1), слід відзначити, що у хворих з пухлинами мозку, різних за ступенем злоякісності (астроцитоми — III ступеня чи гліобластоми — IV ступеня злоякісності), показники активності ПОЛ і системи АОЗ практично однакові: зниження рівня

ТБК-активних речовин, пригнічення активності ферментів АОЗ. Як свідчать результати дослідження, у крові хворих з гліальними пухлинами мозку пригнічується активність ПОЛ за одночасного зниження активності фізіологічної системи АОЗ. Це можна пояснити тим, що однією з особливостей злоякісних пухлин є здатність накопичувати велику кількість біоантиоксидантів шляхом «перекачування» їх через кров з непошкоджених тканин [7]. Накопичення надмірної кількості біоантиоксидантів в пухлині інгібує процеси ПОЛ, зумовлює гальмування процесів вільнорадикального ПОЛ у тканинах пухлини, і, з найбільшою вірогідністю, є чинником, що зумовлює посилений та безконтрольний ріст пухлини у стадії прогресії, а в подальшому — сприяє прогресуванню канцерогенезу на всіх етапах його перебігу.

Дослідження вільнорадикального переокиснення та антиоксидантної активності крові у тварин з експериментальною пухлиною ЦНС.

Проведене дослідження у 48 білих щурів-самців, яким у лобово-тім'яну ділянку перевито гліому мозку штаму А-101.8. Встановлено виражену залежність дестабілізації процесів ПОЛ від активності росту пухлини після трансплантації у мозок тварин штаму гліоми. Активний ріст пухлини спостерігали, починаючи з 7-ї доби експерименту, що супроводжувалося активацією процесів ПОЛ в мозку тварин (за вмістом ТБК-активних продуктів і показником ІХЛ) (рис. 2) та зниженням активності системи АОЗ (за показниками активності СОД та загальної АОА) у крові дослідних тварин (рис. 3) на 13-ту добу експерименту.

Результати експериментальних досліджень показників у плазмі крові тварин з пухлиною головного мозку цілком співставні з даними, отриманими у крові хворих з пухлинами головного мозку, при цьому у мозку тварин на 7-му та 13-ту добу спостерігали активацію ПОЛ. Отримані результати дозволяють припустити наявність аналогічних змін у головному мозку пацієнтів з онкологічним захворюванням, про що свідчить досить високий коефіцієнт кореляції (на 7-му добу для ТБК-активних продуктів r=0,52, для ІХЛ r=0,91).

Висновки. 1. За даними біохімічних та біофізичних досліджень про- та антиоксидантного статусу доведено достовірне підвищення активності процесів

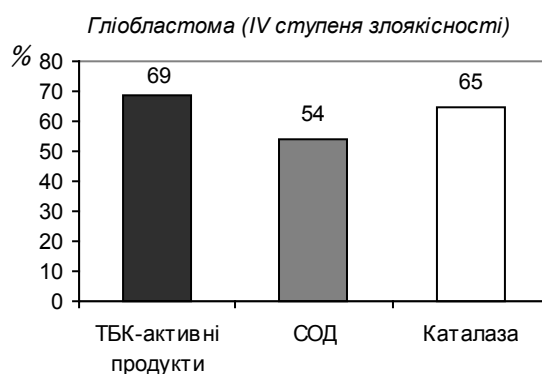
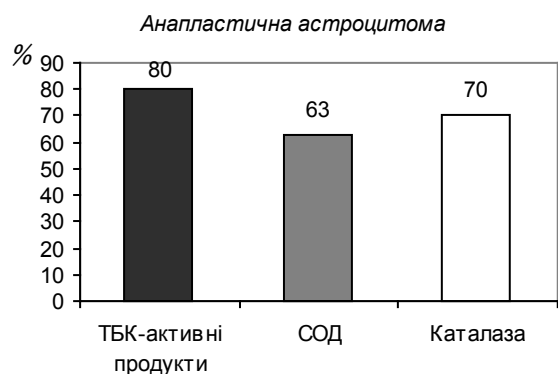


Рис. 1. Вміст продуктів ПОЛ та активність системи АОЗ у крові хворих з гліальними пухлинами головного мозку; 100% — відповідні показники у плазмі крові донорів.

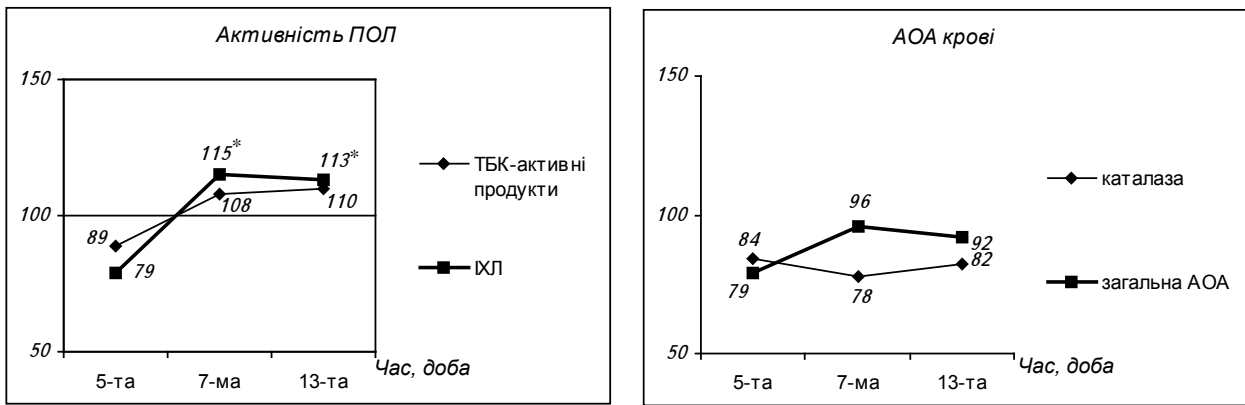


Рис. 2. Зміни активності ПОЛ та системи АОЗ в тканині мозку тварин з експериментальною пухлиною головного мозку; % відносно відповідних показників у інтактних тварин; * — $P < 0,05$.

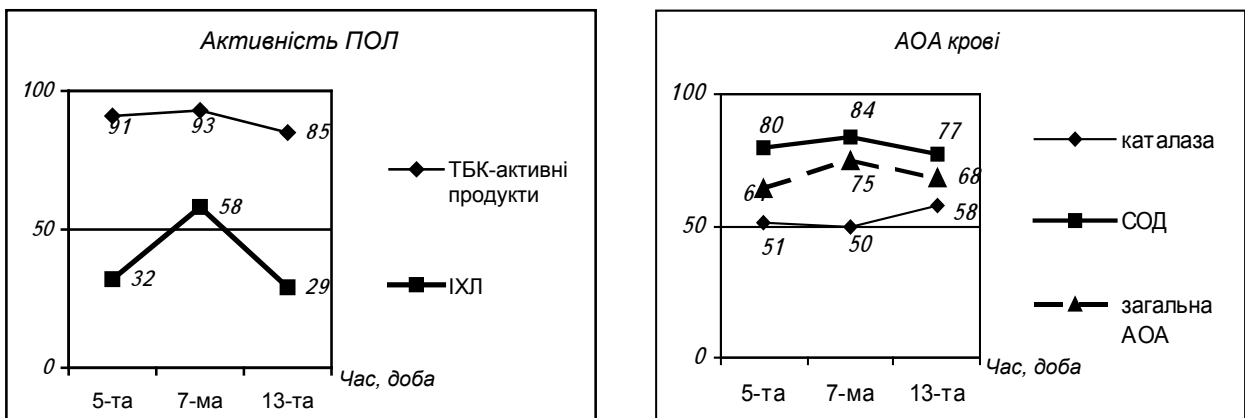


Рис. 3. Зміни активності ПОЛ та системи АОЗ в крові тварин з експериментальною пухлиною головного мозку; % відносно відповідних показників у інтактних тварин; * — $P < 0,05$.

ПОЛ (за показником ІХЛ) та пригнічення активності системи АОЗ у плазмі крові хворих з пухлинним ураженням головного мозку.

2. В експериментальних дослідженнях встановлено аналогічну такій у клініці дестабілізацію про- та антиоксидантного статусу у крові тварин з перевитою у головний мозок гліомою А-101.8. У мозку тварин, на тлі вірогідного підвищення активності процесів ПОЛ, зберігалася низька активність системи АОЗ.

3. У клінічних дослідженнях доведена співставність змін про- та антиоксидантного статусу в крові хворих з гліомами різного ступеня злоякісності, при цьому визначення стану вільнорадикального ПОЛ та системи АОЗ може бути використане як діагностичний тест та прогностичний критерій для оцінки ефективності лікування хворих з пухлинами головного мозку.

Список літератури

1. Барабой В.А., Суткової Д.А. Окислительно-антиоксидантний гомеостаз в нормі та патології / Под ред. акад. АМН України Ю.А.Зозулі. — К.: Чернобільинтеринформ, 1997. — 413 с.
2. Закарян А.К., Бабок Ю.В. Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве. — М.: Медицина, 1974. — 88 с.
3. Зозуля Ю.П., Барабой В.А., Суткової Д.А. Роль перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи у патогенезі пухлин головного мозку (огляд літератури

та власних досліджень) // Журн. АМНУ. — 2002. — Т.8, №1. — С.26-40.

4. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Суткової Д.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. — М.: Знание-М, 2000. — 344 с.
5. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаб. дело. — 1998. — №5. — С.59-62.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16-19.
7. Левченко Л.И., Демчук М.Л. Перекисное окисление и антиокислительная активность липидов в опухолевой ткани и крови больных с нейроонкологическими заболеваниями // Вопр. нейрохирургии. — 1991. — №4. — С.23-25.
8. Проскураков С.Я., Конопляников А.Г., Иванников А.И. и др. Оксид азота в неопластическом процессе // Вопр. онкологии. — 2001. — Т.47, №3. — С.257-269.
9. Синько Л.Н., Зозуля Ю.А. Роль оксида азота в патогенезе глиом // Эксперим. онкология. — 2000. — Т.22, №4. — С.246-250.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С.66-68.
11. Суткової Д.А., Розуменко В.Д., Макарова Т.А., Верховлядов Ю.П. До питання про роль процесів пероксидації в етіології онкогенезу ЦНС // Міжнар. неврол. журн. — 2005. — №3. — С.118.

12. Cirak B., Inci S., Palaoglu S. Lipid peroxidation in cerebral tumors // Clin. Chim. Acta. — 2003. — V.327, N1-2. — P.103-107.
13. Jeong J.I., Lee Y.W., Kim Y.K. Chemical hypoxia-induced cell death in human glioma cells: role of reactive oxygen species, ATP depletion, mitochondrial damage and Ca²⁺ // Neurochem. Res. — 2003. — V.28, N8. — P.1201-1211.
14. Leaver H.A., Williams J.R., Smith C. Intracellular oxidation by human glioma cell populations: effect of arachidonic acid // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. — 2004. — V.70, N5. — P.449-453.
15. Yilmaz N., Dulger H., Kiyamaz N. Lipid peroxidation in patients with brain tumor // Inst. J. Neurosci. — 2006. — V.116, N8. — P.937-943.

Состояние свободнорадикальных процессов и системы антиоксидантной защиты организма при глиомах головного мозга в клинике и эксперименте

Розуменко В.Д., Сутковой Д.А., Троян А.И., Дмитренко А.Б., Макарова Т.А.

Приведены данные литературы, в которых показано, что возникновение онкологических заболеваний головного мозга тесно связано с дестабилизацией систем про- и антиоксидантного статуса в организме больных. Целью работы было изучение состояния свободнорадикальных процессов и системы антиоксидантной защиты (АОЗ) в крови больных со злокачественными опухолями головного мозга, а также активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и системы АОЗ в мозгу и крови экспериментальных животных, которым произведена трансплантация штамма глиомы А-101.8. В крови больных с опухолями головного мозга отмечено повышение активности процессов ПОЛ и снижение активности

ферментов системы АОЗ. По данным экспериментальных исследований установлена корреляционная связь между дестабилизацией процессов ПОЛ в мозгу и крови экспериментальных животных и интенсивностью роста опухоли как следствие имплантации штамма глиомы А-101.8. В мозгу больных животных на фоне достоверного повышения активности ПОЛ наблюдали снижение активности системы АОЗ организма.

The state of free-radical processes and antioxidant protection system at brain gliomas in clinic and experiment

Rozumenko V.D., Sutkovoy D.A., Troyan O.I., Dmitrenko A.B., Makarova T.A.

Recent data of literature, which have shown that development of brain tumors is tightly connected with pro- and antioxidant status destabilization at patient's organism. The purpose of our research was to study state of free-radical processes and antioxidant protection (AOP) system in blood of patients with malignant brain tumors; and to research the activity of lipid peroxidation process (LPP) and AOP system in brain and blood of experimental animals, which underwent the transplantation of glioma's A-101.8. In blood of patients with brain tumors the LPP activity increases while the activity of AOP system enzymes decreases. Experimental researches have revealed the cross-correlation connection of LPP destabilization processes in the brain and blood of animals and tumor growth intensity, followed the implantation of glioma A-101.8. The reliable increase of LPP activity in the brain of experimental animals has been demonstrated while the activity of AOP system was depressed.

Комментарий

к статье Розуменко В.Д. и соавторов «Состояние свободно-радикальных процессов и системы антиоксидантной защиты при глиомах головного мозга в клинике и эксперименте»

Крайне важными являются исследования свободнорадикальных процессов и про-, антиоксидантного гомеостаза при онкологических процессах в мозге. В настоящее время установлено, что активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) способствует активации канцерогенов и ускорению роста опухоли.

В работе на основе данных экспериментальных исследований доказано повышение активности ПОЛ и снижение активности системы АО-защиты в крови. Аналогичная зависимость обнаружена и в мозгу человека. Эти исследования открывают новые возможности в совершенствовании целенаправленного лечения злокачественных глиом головного мозга.

Продукты ПОЛ и свободные радикалы являются важным фактором канцерогенеза. В данной работе рассматривается ранее достаточно не изученная роль этих процессов у больных с злокачественными опухолями головного мозга и изучена активность антиоксидантной защиты в крови.

Исследования проведены на достаточно полном материале: у 34 больных с злокачественными глиомами головного мозга выявлялась интенсивность ПОЛ и антиоксидантный статус в плазме крови. Полученные данные обработаны статистически, что увеличивает достоверность полученного материала.

*С.А. Усатов, доктор мед. наук, профессор,
зав. курсом нейрохирургии
Луганского государственного медицинского университета*

Коментар**до статті Розуменка В.Д. та співавторів «Стан вільнорадикальних процесів та системи антиоксидантного захисту при гліомах головного мозку в клініці та експерименті»**

В сучасній літературі сформовано уяву про значення окиснювальних процесів у нейроонкогенезі як фактору утворення генетичної нестабільності, а також важливу роль балансу між процесами окиснення ключових молекул клітини та активністю систем антиоксидантного захисту. Важливим питанням також вважають стан систем антиоксидантного захисту для пухлинної прогресії. За сучасними уявленнями, прогресія злоякісної пухлини пов'язана з чергуванням періодів гіпоксії та стабілізації постачання кисню, що потребує високої гнучкості антиокиснювальних систем, що в сукупності з іншими необхідними властивостями є обов'язковим для виживання пухлинного клону. Інше питання — це вплив росту пухлини на стан окиснювальних та антиокиснювальних процесів в усій тканині мозку та крові та їх значення у патогенезі нейроонкологічних захворювань.

Представлена робота присвячена доведенню положення, що при гліомах головного мозку порушується баланс між окиснювальними та антиокиснювальними процесами в тканині мозку та крові, для чого використана експериментальна модель імплантованої гліоми штаму А-101.8 у дослідних тварин, а також проведені аналогії з станом окиснювальних та антиокиснювальних процесів у крові нейроонкологічних хворих. Для виконання наукової роботи використані методи дослідження індукованої хемілюмінесценції (ІХЛ), рівня ТБК-активних продуктів, активність каталази та супероксиддисмутази. Автори на основі даних ІХЛ стверджують, що активність окиснювальних процесів у крові (хворих з гліальними пухлинами та експериментальних тварин) підвищується на тлі зниження антиокиснювальної активності. Інший показник окиснювальної активності — ТБК-активні продукти, навпаки, відповідно отриманим даним, знижений, що не знаходить належного пояснення. Таким чином, якщо зниження антиокиснювальної активності у крові хворих з гліальними пухлинами та експериментальних тварин з трансплантованою гліомою штаму А-101.8 можна вважати доведеним, то висновок щодо підвищення окиснювальної активності є протирічним і потребує подальшого доведення.

*І.Г. Васильєва, кандидат біологічних наук,
зав. відділом нейробіохімії
Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України*