
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Щерина А.В., Крощихина К.Э., 2018
DOI:10.23888/НМЖ201816-18

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.В. ЩЕРИНА, К.Э. КРОЩИХИНА

Нижегородская государственная медицинская академия, пл. Минина и Пожарского, 10/1, 603005, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

Цель исследования. Анализ свободнорадикальной активности опухолевой ткани и крови при злокачественных и доброкачественных новообразованиях головного мозга. **Материалы и методы.** Изучение свободнорадикальной активности включало в себя проведение количественного обнаружения методом индуцированной биохемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-07, сопряженным с компьютером IBM. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета Biostat 4.3. Объектом исследования стали кровь и послеоперационный материал опухолевых новообразований головного мозга 12 пациентов со злокачественными опухолями головного мозга (глиома, глиобластома, астроцитомы), 7 пациентов с доброкачественными опухолями головного мозга (менингиома, субэпендимомы) до проведения лечения. В качестве контроля использовали ткань мозга лиц, погибших в результате травмы, и кровь от 10 практически здоровых людей. Также в качестве модели гипоксии изучали ткань головного мозга от 7 лиц, погибших от сердечно-сосудистой недостаточности. **Результаты.** Свободнорадикальная активность в тканях опухоли значительно повышалась при злокачественных и доброкачественных новообразованиях головного мозга по сравнению с таковой у контрольной группы. Однако, при злокачественных новообразованиях уровень свободных радикалов в опухолевой ткани мозга гораздо выше (в 4,2 раза по сравнению с контролем), чем при доброкачественных – в 2,5 раз по сравнению с контролем. Свободнорадикальная активность плазмы крови значительно возрастала при злокачественных новообразованиях головного мозга по сравнению с практически здоровыми людьми и людьми с доброкачественными новообразованиями более, чем в 15 и 2,5 раз соответственно. Интересным результатом исследования стало и то, что свободнорадикальная активность ткани головного мозга у лиц, погибших от сердечно-сосудистой недостаточности, у которых имела место хроническая гипоксия мозга достоверно выше, чем у лиц, погибших от травмы. **Выводы.** Определение свободнорадикальной активности крови может быть использовано в целях дифференциальной диагностики при доброкачественных и злокачественных новообразованиях головного мозга.

Ключевые слова: свободнорадикальная активность, метод индуцированной биохемилюминесценции, доброкачественные и злокачественные опухоли головного мозга, гипоксия, дифференциальная диагностика.

По данным Всемирной организации здравоохранения, на сегодняшний день ежегодно рак диагностируется у 14 миллионов человек, а количество смертей от этого заболевания составляет 8,2 миллиона в год. Предполагается, что заболеваемость раком значительно возрастет: к 2025 году эта цифра достигнет 19 миллиона в год, а к 2035 году – 24 миллиона случаев [1].

Очень важно различать доброкачественные и злокачественные опухоли, так как лечатся они по-разному, что особенно значимо при опухолях головного мозга [2]. Первичные опухоли центральной нервной системы составляют около 2% всех опухолей и занимают 4 место в структуре онкологической смертности. Несмотря на все современные успехи нейрохирургии, развитие интраоперационной навигации, химио- и лучевой терапии, лечение первичных злокачественных опухолей головного мозга продолжает оставаться недостаточно эффективным. Доброкачественные же опухоли головного мозга не представляют угрозу для жизни. Только некоторые из них удаляются хирургическим путем. Кроме того, при лечении доброкачественных новообразований практически никогда не используют химиотерапию или лучевую терапию. Данные о злокачественности опухоли появляются лишь после проведения иммуногистохимического анализа биопсийного или послеоперационного материала, осуществление которого требует значительного времени исполнения, является инвазивным и трудоемким методом диагностики. Достоверная информация о злокачественности или доброкачественности опухоли позволит оптимизировать процесс лечения и существенно повысить его эффективность.

Нарушение свободнорадикальной активности при злокачественных новообразованиях имеет диагностический характер и повышение уровня свободных радикалов – один из пусковых механизмов канцерогенеза [3].

Свободнорадикальное окисление – важный и многогранный биохимический процесс превращений кислорода, липи-

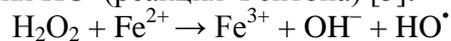
дов, нуклеиновых кислот, белков и других соединений под действием свободных радикалов, а перекисное окисление липидов – одно из его последствий.

Свободные радикалы представляют собой соединения, имеющие неспаренный электрон на наружной орбите и обладающие высокой реакционной способностью.

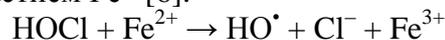
Активные формы кислорода – это целый ряд образующихся в организме промежуточных и побочных продуктов восстановления молекул кислорода, таких как супероксидный ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный (OH^{\cdot}), пергидроксильный (HO_2^{\cdot}), пероксильный (RO_2^{\cdot}) и алкоксильный (RO^{\cdot}) радикалы, оксид азота (NO^{\cdot}), пероксинитрит ($ONOO^{\cdot}$), гипохлорит ($HOCl$), перекись водорода (H_2O_2) и др. [4].

Среди кислородных свободных радикалов отводят наиболее значительную роль супероксидному анион-радикалу ($O_2^{\cdot-}$), так как считается, что именно он является родоначальником многих других активных форм кислорода.

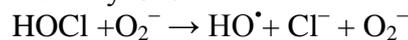
Гидроксильный радикал (HO^{\cdot}). Одноэлектронное восстановление H_2O_2 приводит к образованию гидроксильных радикалов, обладающих чрезвычайно высокой реакционной способностью. Разложение H_2O_2 в присутствии ионов двухвалентного железа является основным путем образования HO^{\cdot} (реакция Фентона) [5]:



Другой путь образования гидроксильного радикала – это реакция разложения гипохлорита, которая также протекает с участием Fe^{2+} [6]:



Установлено, что образование гидроксильного радикала возможно при разложении гипохлорита также и железонезависимым путем:



Обладая наиболее высоким в живой природе редокс-потенциалом ($E_0=+2.7V$), и будучи вследствие этого чрезвычайно агрессивным, OH^{\cdot} оказывает действие практически на любую биологическую молекулу. Но наибольший ущерб клетке наносят его реакции с ДНК, белками и

полиненасыщенными жирными кислотами внутриклеточных и плазматических мембран, что определяет сильнейшее мутагенное и цитотоксическое действие гидроксильного радикала [7].

Таким образом, свободнорадикальная активность является одним из пусковых механизмов формирования всех злокачественных новообразований. Мозг особо уязвим для свободных радикалов из-за его высокого потребления кислорода и высоких концентраций легко окисляющихся полиненасыщенных жирных кислот. Поэтому мозг наиболее подвержен окислительному повреждению [8].

Цель исследования

Анализ свободнорадикальной активности опухолевой ткани и крови при злокачественных и доброкачественных новообразованиях головного мозга.

Материалы и методы

Исследованы кровь и ткань опухолевых новообразований головного мозга 12 пациентов со злокачественными опухолями головного мозга (глиома, глиобластома, астроцитомы) – 6 женщин и 6 мужчин в возрастной категории от 39 до 53 лет, 7 пациентов с доброкачественными опухолями головного мозга (менингиома, субэпендимомы) – 3 женщины и 4 мужчины в возрасте от 37 до 59 лет, до проведения лечения. В качестве контроля использовали ткань мозга лиц, погибших в результате травмы (время смерти: до 10ч) – 7 человек (3 мужчин и 4 женщин в возрасте от 36 до 47 лет), и кровь от 10 практически здоровых людей (5 мужчин и 5 женщин в возрастной категории от 35 до 65 лет). Также в качестве модели гипоксии изучали ткань головного мозга от 7 лиц, погибших от сердечно-сосудистой недостаточности (4 женщины и 3 мужчины в возрасте от 48 до 64 лет).

Свободнорадикальную активность оценивали методом индуцированной биохимиллюминесценции [9]. Метод биохимиллюминесцентного анализа информативен, обладает высокой чувствительностью и может быть использован и при выявлении

предпатологического состояния и начальных стадий различных патологий при скрининговых профилактических обследованиях. Работа была выполнена на биохимиллюминиметре БХЛ-07, сопряженным с компьютером IBM. БХЛ-07 предназначен для регистрации световых потоков, возникающих в биологических образцах в результате протекания ферментативных и химических процессов.

Метод индуцированной перекисью водорода и сульфатом железа хемиллюминесценции основан на том, что в представленной системе происходит каталитическое разложение перекиси водорода ионами металла с переменной валентностью – двухвалентным железом: $ROOH + Fe^{2+} \rightarrow RO^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{3+}$ (реакция Фентона). Образующиеся RO^{\bullet} и OH^{\bullet} вступают в реакцию активации свободнорадикального окисления в биологическом субстрате, что приводит к образованию неустойчивого тетраоксида, распадающегося с выделением кванта света, регистрируемого на БХЛ-07. На интенсивность процесса свечения оказывает влияние полный комплекс соединений, обладающих как оксидантным, так и прооксидантным действием.

Информативными показателями считаются I_{max} – максимальная интенсивность свечения исследуемой пробы, измеряемая в mV. I_{max} отражает свободнорадикальную активность образца (рис. 1).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета Biostat 4.3.

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенного исследования было выявлено, что свободнорадикальная активность в тканях опухоли значимо повышалась при злокачественных и доброкачественных новообразованиях головного мозга по сравнению с таковой у контрольной группы. Однако, при злокачественных новообразованиях уровень свободных радикалов в опухолевой ткани мозга гораздо выше (в 4,2 раза по сравнению с контролем), чем при доброкачественных – в 2,5 раз по сравнению с контролем (рис. 2).

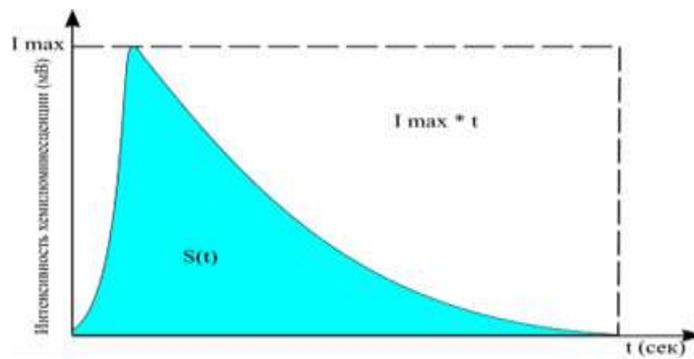


Рис. 1. Кинетическая кривая развития сигнала индуцированной хемилюминесценции [9]

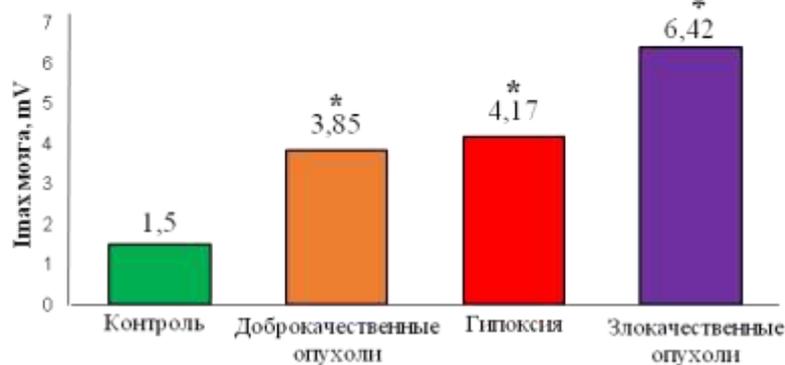


Рис. 2. Свободнорадикальная активность опухолевой ткани при опухолях мозга

- Контроль (ткань мозга лиц, погибших в результате травмы)
- Доброкачественные опухоли головного мозга
- Гипоксия (ткань мозга лиц, погибших от сердечно-сосудистых заболеваний)
- Злокачественные опухоли головного мозга

* - различия с показателями контрольной группы достоверны ($p < 0,05$)

Интересным результатом исследования стало и то, что свободнорадикальная активность ткани головного мозга у лиц, погибших от сердечно-сосудистой недостаточности, у которых имела место хроническая гипоксия мозга достоверно выше, чем у лиц, погибших от травмы (рис. 2). Перекисное окисление активируется также в тканях, подвергшихся сначала ишемии, а затем реоксигенации, что происходит, например, при спазме коронарных артерий и последующем их расширении. Такая же си-

туация возникает при образовании тромба в сосуде, питающем миокард. Формирование тромба приводит к окклюзии просвета сосуда и развитию ишемии в соответствующем участке миокарда (гипоксия ткани) [10]. Свободнорадикальная активность плазмы крови значительно возрастала при злокачественных новообразованиях головного мозга по сравнению с практически здоровыми людьми и людьми с доброкачественными новообразованиями более, чем в 1,5 и 2,5 раз соответственно (рис. 3).

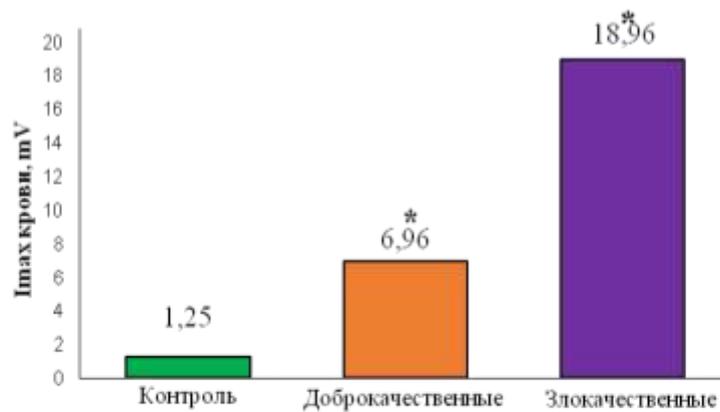


Рис. 3. Свободнорадикальная активность плазмы крови при опухолях головного мозга

- Контроль (кровь практически здоровых людей)
- Доброкачественные опухоли
- Злокачественные опухоли

* - различия с показателями контрольной группы достоверны ($p < 0,05$)

Образование митохондриального супероксида и повышение уровня других активных форм кислорода при опухолевом процессе вызывает в организме состояние окислительного стресса [11].

Развитие бластоматозного процесса сопровождается повышением уровня супероксидного анион-радикала и других активных форм кислорода, развитием в организме состояния окислительного стресса [12]. Считается, что накопление супероксидного анион-радикала на ранних стадиях опухолевого роста способствует повреждению ДНК, росту числа мутаций, экспрессии некоторых генов и малигнизации клеток, изменению физико-химических свойств мембран, в том числе ядерной [13]. Существует гипотеза, предполагающая участие активных форм кислорода, в частности, супероксидного радикала и пероксида водорода в регуляции пролиферации клеток [14].

Таким образом, показано увеличение свободнорадикальной активности плазмы крови и опухолевой ткани при злокачественных новообразованиях головного мозга.

Интенсификация процессов свободнорадикального окисления, является наиболее важным повреждающим эффектом в процессе зарождения опухоли. Выделяют 2 пути активации свободнорадикального окисления при канцерогенезе:

1 путь. На фоне воспаления повышается синтез цитокинов, которые в соответствии с уровнем их активности генерируют высвобождение высокого уровня оксида азота NO. Известно, что в очаге воспаления накапливается продукт частичного восстановления кислорода – супероксидный анион-радикал [15]. NO и супероксид-анион подвергаются быстрому радикал – радикальному взаимодействию с образованием медиатора окислительного клеточного повреждения – пероксинитрита (рис. 4).

2 путь. Активные формы кислорода и свободные радикалы способны взаимодействовать с различными клеточными макромолекулами, такими как ДНК, белки и липиды мембран, что приводит к возникновению большого числа окисленных продуктов (рис. 5).

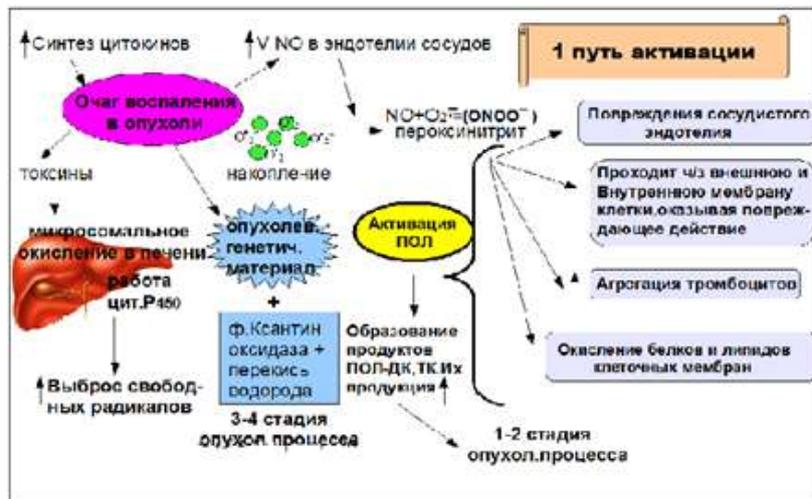


Рис. 4. Схема активации процессов свободнорадикального окисления у больных раком [15]



Рис. 5. Воздействие свободных радикалов и активных форм кислорода на белки, липиды и ДНК [16]

Выводы

1. Методом индуцированной биолюминесценции установлено, что свободнорадикальная активность опухолевых тканей и плазмы крови возрастала при опухолях головного мозга. При доброкачественных опухолях увеличение свободнорадикальной активности было менее значительным, чем при злокачественных.

2. Свободнорадикальная активность в опухолевой ткани в том числе может быть обусловлена процессами гипоксии.

3. Определение свободнорадикальной активности крови может быть использовано в целях дифференциальной диагностики при доброкачественных и злокачественных новообразованиях головного мозга.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Global battle against cancer won't be won with treatment alone Effective prevention measures urgently needed to prevent cancer crisis // The International Agency for Research on Cancer Organization, World Health, Press release №224. Lyon/London. 2014. P. 630.
2. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Онкология. М.: ГЭОТАРМедиа, 2007.
3. Воейков В.Л. Благотворная роль активных форм кислорода // Биохимия. 2004. №1. С. 27-38.
4. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6, №12. С. 1-2.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. М.: Наука, 2003. С. 230-272.
6. Якутова Э.Ш., Дремина Е.С., Евгина С.А. Образование свободных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа // Биофизика, 2004. Т. 39, вып. 2. С. 275-279.
7. Melov S. Animal models of oxidative stress, aging and therapeutic antioxidant interventions // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2003. Vol. 34. P. 1395-1400.
8. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7, №4. С. 21-28.
9. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободно-радикальных реакций в биологических субстратах // Межвузовский сборник биохимии и биофизики микроорганизмов. Горький; 1983. С. 179-183.
10. Северин Е.С. Биохимия: учебник для вузов. М., 2003. С. 429-431.
11. Morris G.E., Humphrey E.L., Fuller H.R. Naturally occurring plant polyphenols as potential therapies for inherited neuromuscular diseases // Future Medicinal Chemistry. 2013. №5(17). P. 2091-2101.
12. Miki J., Furusato B. et al. Identification of Putative Stem Cell Markers, CD 133, and CXCR_4, in hTERT – Immortalised Primary Nonmalignant and Malignant Tumor-Derived Human Prostate Epithelial Cell Lines and in Prostate Cancer Specimens // Cancer Research. 2007. Vol. 67. P. 3153-3161.
13. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. С. 553.
14. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. С. 10-284.
15. Окрут И.Е., Шакерова Д.А., Веселова Т.А. Изменение концентрации оксида азота и активности свободнорадикального окисления в крови больных раком молочной железы // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. №5(1). С. 118-121.
16. Гуськов Е.П., Шкурат Т.П., Вардуни Т.В., и др. Генетика окислительного стресса. Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ ЮФУ, 2009.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Щерина А.В. – студентка 2 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, г. Волгоград, Российская Федерация; SPIN 6390-0944, ORCID ID 0000-0002-2356-586X.
E-mail: ashcherina@yandex.ru

Крощихина К.Э. – студентка 3 курса медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России, г. Волгоград, Российская Федерация; SPIN 3396-3630, ORCID ID 0000-0001-7082-2980.