

ОБЗОРЫ

УДК 615.277.3.015.

©Н.В. Никифорова, А.Е. Берман

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЧЕЛОВЕКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ.

Н.В. Никифорова¹, А.Е. Берман²

¹Научно-исследовательский институт урологии МЗ РФ, 105425 Москва,
3-я Парковая ул., 51; тел.: (095)367-38-06

²ГУНИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 119121 Москва
ул. Погодинская 10; тел.: (095)246-50-72; эл. почта: berman@ibmh.msk.su

Обзор посвящен роли низкомолекулярных антиоксидантов и антиоксидантных ферментов в канцерогенезе. Анализируются данные об аккумуляции антиоксидантов (жиро- и водорастворимых) в ряде злокачественных опухолей человека и экспериментальных животных, в первую очередь, в ткани почечно-клеточного рака. Рассматривается возможность про- и антиканцерогенного эффекта избыточной концентрации антиоксидантов в опухолевых клетках. Обсуждается участие антиоксидантов в формировании резистентности опухолей к химиотерапевтическим препаратам и ионизирующему излучению.

Ключевые слова: канцерогенез, жиро- и водорастворимые антиоксиданты, антиоксидантные ферменты, апоптоз, почечно-клеточный рак.

ВВЕДЕНИЕ Свободнорадикальному окислению (СРО), одному из универсальных механизмов повреждения клетки, в настоящее время отводится важная роль в канцерогенезе. Свободными радикалами (СР) называются частицы, имеющие неспаренный электрон, и в биологических системах они представлены, главным образом, СР кислорода. Последние образуются в ходе нормального клеточного метаболизма и при патологических состояниях (ишемия, воспаление, стресс), а также при воздействии на организм ксенобиотиков и ионизирующей радиации. Собственно радикалами кислорода являются супероксидный ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и гидроксильный (OH^{\cdot}) радикалы. Кроме того, к более активным, чем молекулярный кислород, формам кислорода относят перекись водорода (H_2O_2) и синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), которые не будучи СР, могут быть причиной их появления. Так, при взаимодействии H_2O_2 с супероксидным радикалом или с металлами переменных валентностей (железо, медь) возникает наиболее токсичный из радикалов кислорода - OH^{\cdot} , а при взаимодействии синглетного кислорода с биомолекулами образуются их перекисные соединения, являющиеся, в свою очередь, источником СР [1-3]. В дальнейшем для удобства изложения активные радикальные и нерадикальные формы кислорода мы будем обозначать общим термином - активные формы кислорода (АФК).

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

Многими исследователями признается, что СР, в первую очередь АФК, принимают участие во всех стадиях канцерогенеза [2-4]. Вызываемые ими окислительные повреждения ДНК соматических клеток могут вести к возникновению мутаций (стадия инициации). Повреждая гены, связанные с пролиферацией или клеточной смертью (апоптозом), АФК могут стимулировать рост иницированных клеток (стадия промоции). Последующие мутации генов, происходящие при дальнейшем воздействии АФК, могут приводить к формированию злокачественного клеточного фенотипа (стадия прогрессии). В ряде биохимических и иммуноморфологических исследований в злокачественных клетках было обнаружено повышенное содержание ДНК с основаниями, подвергшимися окислительной модификации, в частности с 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозином - 8-(ОН)-ДГ [4, 5]. Помимо ДНК под воздействием АФК могут окисляться мембранные липиды, белки, углеводы, в результате чего изменяется активность ряда ферментов, нарушается проницаемость клеточных мембран. Наиболее хорошо охарактеризована реакция АФК с ненасыщенными жирными кислотами, известная как перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Перекисное окисление липидов в опухолевой ткани. Об активности ПОЛ в раковых клетках нет однозначного мнения. С одной стороны, в опытах с гепатомами крыс различной степени дедифференцировки было показано [6,7], что активность ПОЛ в них снижена за счет более низкого, чем в нормальных гепатоцитах, содержания субстрата окисления - полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и более высокого уровня важнейшего жирорастворимого антиоксиданта - α -токоферола (витамина Е). Снижение активности ПОЛ и значительное увеличение концентрации α -токоферола были обнаружены и в других злокачественных опухолях экспериментальных животных [8,9] и в некоторых карциномах человека [10-13].

С другой стороны, имеется комплекс работ, выполненных на культивируемых опухолевых клетках человека (карциномы молочной железы, легких, простаты, печени), в которых при определенных условиях обнаруживалась высокая активность ПОЛ. Так, было показано, что добавление ПНЖК в культуральную среду оказывало на клетки цитотоксический [14-17] или цитостатический [18,19] эффекты и сопровождалось накоплением в них токсичных продуктов ПОЛ: гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида. Одновременно было отмечено уменьшение содержания эндогенных ПНЖК в фосфолипидах злокачественных клеток вследствие активации перекисного окисления [15]. Внесение же в культуральную среду вместе с ПНЖК антиоксиданта α -токоферола ингибировало их цитотоксический эффект и восстанавливало рост клеток [16,18,19]. На нормальные фибробласты или почечные клетки экзогенные ПНЖК не оказывали повреждающего действия, поскольку активации ПОЛ в них не происходило. Известно, что вторичные продукты окислительного распада ПНЖК (альдегиды, кетоны, спирты) обладают токсическим действием и блокируют ряд важных клеточных процессов. В первую очередь это относится к 4-гидрокси-2-ноненалу (4-ГНЕ), одному из основных продуктов ПОЛ, избыточное количество которого в клетках нарушает дыхательную функцию митохондрий и ингибирует синтез ряда белков. Кроме того, 4-ГНЕ вступает в соединение с белками, модифицируя их структуру и свойства. Перекисное окисление ПНЖК мембранных фосфолипидов приводит к появлению в гидрофобном слое мембран гидрофильных группировок и пор, что резко нарушает транспортные процессы, вызывая повреждение и гибель клеток [1, 7]. Помимо исследований ПОЛ *in vitro* на культивируемых клетках, следует упомянуть и опыты *in vivo*, проведенные на бестимусных мышцах с перевиваемой карциномой молочной железы человека [20]. У животных, получавших рацион с высоким содержанием рыбьего жира, богатого ПНЖК, объем опухолей был достоверно меньше, а концентрация в раковой ткани малонового диальдегида, еще одного вторичного продукта ПОЛ, выше, чем у мышей на рационе с кукурузным маслом, менее богатым ПНЖК.

Существует мнение, что активное перекисное окисление экзогенных ПНЖК в раковых клетках может быть обусловлено их способностью к наработке АФК, инициирующих эти процессы. Так, Szatrowski и соавт. [21], изучая 10 линий злокачественных клеток человека, показали, что 7 из них, принадлежавших к 4 типам опухолей (меланомам, нейробластомам, карциномам кишечника и яичника), нарабатывали H_2O_2 без всякой стимуляции со скоростью до $0,5 \text{ нмоль}/10^6 \text{ клеток}$ в час, так что за 4 часа инкубации накапливались ее количества, сопоставимые с теми, что продуцировали стимулированные фетроболом нейтрофилы человека. Как уже указывалось выше, H_2O_2 может быть источником высоко реактивного $\cdot OH$, вступающего во взаимодействие с молекулами ПНЖК.

Однако, несмотря на наработку раковыми клетками значительных количеств H_2O_2 , в них не наблюдалось необратимых изменений [21,22]. Так, линия раковых клеток яичника, активно продуцировавшая H_2O_2 , была резистентна к лизису посредством H_2O_2 , даже когда ее концентрацию в культуральной среде доводили до 10 мМ [22]. На основании этого предполагается, что раковые клетки обладают специфической антиоксидантной защитой.

Считается, что генерация опухолевыми клетками больших количеств АФК (состояние окислительного стресса), если она имеет место *in vivo*, может повышать потенциал их злокачественности за счет повторных повреждений ДНК и нарастания генетической нестабильности клеток, ведущей к формированию все более агрессивных клонов. Кроме того, способность АФК модифицировать белки и воздействовать на активность ферментов может, в частности, приводить к инактивации ингибиторов протеаз, активации последних и значительной деструкции тканей, облегчающей инвазию и метастазирование опухолевых клеток [3,4,21].

Низкомолекулярные антиоксиданты в опухолевой ткани. Защита от СРО как нормальных, так и опухолевых клеток осуществляется низкомолекулярными антиоксидантами (жиро- и водорастворимыми) и антиоксидантными ферментами (АОФ).

Важная роль в антиоксидантных реакциях принадлежит α -токоферолу, который, будучи встроен в липидный бислой плазматических мембран и мембран клеточных органелл, защищает ПНЖК (РН) фосфолипидов от перекисного окисления. Реагируя, главным образом, с перекисными радикалами ПНЖК ($ROO\cdot$), образуя при взаимодействии ПНЖК с АФК [1-3], α -токоферол отдает им атом водорода группы OH (Ток-ОН) и тем самым предупреждает (обрывает) цепную реакцию СРО. При этом образуются относительно стабильная гидроперекись ПНЖК ($ROOH$) и довольно инертный токоферильный радикал (Ток-О \cdot), способный к взаимодействию с еще одним перекисным радикалом с переводом его в нерадикальное соединение. $ROOH$, которая в присутствии ионов двухвалентного железа легко распадается с образованием свободнорадикальных продуктов, поддерживающих ПОЛ, может быть переведена в инертную гидроксигирную кислоту (РОН) ферментом глутатионпероксидазой (ГПО) за счет редуцирующих эквивалентов глутатиона. Окисленная же форма глутатиона быстро восстанавливается глутатионредуктазой (ГР). Перечисленные реакции, связанные с глутатионом, составляют его редокс-цикл, противодействующий СРО [24].

Таким образом, α -токоферол при участии водорастворимого антиоксиданта глутатиона и антиоксидантного фермента ГПО способствует сохранению целостности клеточных мембран, ограждая их от токсического воздействия избытка СР. Остается не выясненным, каким образом поддерживается баланс между наработкой в раковых клетках АФК, повреждающих ДНК и способствующих формированию все более агрессивных клонов, и антиоксидантными, защитными реакциями, обеспечивающими выживание и пролиферацию клеток определенной популяции.

Выше упоминалось, что в некоторых злокачественных опухолях экспериментальных животных и человека α -токоферол накапливается в больших количествах, чем в соответствующих здоровых тканях. Уже в одной из ранних

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

работ [25] было показано, что перевиваемые или вызываемые химическими агентами злокачественные опухоли крыс (гепатомы, саркомы) более активно аккумулировали α -токоферол, чем гомологичные здоровые ткани, при содержании животных на рационе, обогащенном витамином Е. Хотя уровень α -токоферола в исследованных опухолях был не выше, чем в соответствующих здоровых тканях, опухоли более длительно удерживали его при переходе на рацион, дефицитный по этому витамину. Далее, в ряде работ [6,8,26,27] было продемонстрировано более высокое содержание α -токоферола в некоторых опухолевых тканях мышей и крыс (гепатомах, саркомах, асцитной карциноме Эрлиха), а также в культивируемых злокачественных клетках и в липидных экстрактах из них, по сравнению с соответствующими здоровыми тканями и клетками, что, по мнению некоторых исследователей [6,7], характерно для любых быстро делящихся клеток.

В 1993 г. нами [10] было обнаружено высокое содержание α -токоферола в ткани почечно-клеточного рака (ПКР) человека. В светлоклеточных и смешанноклеточных карциномах с преобладанием светлых клеток содержание этого витамина было в среднем в 15, а в отдельных опухолях - в 36-40 раз выше, чем в не затронутом опухолью корковом веществе той же почки. Сравнение проводилось с корой почки, так как ПКР развивается из малигнизированных клеток канальцев, расположенных преимущественно в этом слое. В карциномах с другим клеточным составом (зернистоклеточный рак, полиморфноклеточный рак и пр.) уровень витамина Е был повышен в меньшей степени, в среднем в 7 раз. В дальнейшем эти данные были подтверждены нами на большем клиническом материале [28, 29]. Одновременно было показано, что содержание общих липидов в большинстве карцином (в 74% случаев) в среднем в 3-4 раза превосходило их уровень в корковом веществе. Несмотря на это, концентрация α -токоферола, рассчитанная на мг липидов, в опухолевой ткани была по-прежнему выше, чем в коре (в 4-5 раз). Расчет концентрации витамина Е на мг тканевых липидов, в которых он заключен, является более специфичным и точным, чем на единицу веса ткани в целом, так как позволяет избежать влияния на определяемую концентрацию таких нестабильных факторов как содержание в опухоли воды, волокон соединительной ткани и пр.

В части исследованных карцином (9 из 31 случая) содержание липидов не было увеличено, но уровень α -токоферола при выражении результатов как на г ткани опухоли, так и на мг липидов также превышал контрольный, в среднем в 3 раза. Это были опухоли с высокой степенью злокачественности, для которых характерен быстрый рост и активное потребление энергетических и пластических субстратов. Таким образом, аккумуляция α -токоферола в ткани ПКР не была обусловлена высоким содержанием в ней липидов, как это можно было бы предположить, исходя из одновременного повышения обоих компонентов в большинстве карцином.

О второстепенном значении уровня липидов как причины повышенного содержания α -токоферола в почечных карциномах свидетельствуют и результаты проведенного нами эксперимента на опухолях почек крыс, индуцированных химическим канцерогеном диметилнитрозоамином [9]. В почках животных развивались как аденокарциномы, соответствующие ПКР человека, так и фибросаркомы. Содержание α -токоферола в тех и других опухолях на единицу веса ткани было достоверно выше, чем в интактной коре, уровень же общих липидов не только не был увеличен, но оказался ниже контрольных значений. В результате концентрация α -токоферола в индуцированных аденокарциномах и фибросаркомах, рассчитанная на мг липидов, была в 3-4 раза выше, чем в корковом веществе, как это наблюдалось и при исследовании ПКР человека. Умеренная нагрузка животных в процессе канцерогенеза α -токоферилацетатом, вводимым внутривентрикулярно в дозе 7 мг на 100 г веса тела, приводила к дальнейшему накоплению его в опухолевой ткани, причем более значительному, чем в нормальной. Это наблюдение подтверждает ранее отмеченное "сродство"

злокачественных клеток к витамину Е [25]. Вместе с тем, мы не обнаружили более частого возникновения опухолей почек у животных, получавших α -токоферол, как это было показано некоторыми исследователями на моделях опухолей другой локализации [30,31], возможно, из-за недостаточно высокой дозы препарата. Однако, в наших опытах наблюдалась выраженная тенденция к ускорению развития неоплазм под влиянием нагрузки витамином Е.

Таким образом, высокая обеспеченность α -токоферолом опухолевых клеток почек человека и крыс позволяет предположить его участие в процессах злокачественного роста в этом органе. В некоторых почечных карциномах человека, помимо витамина Е мы определяли содержание другого жирорастворимого витамина - витамина А [29], также обладающего антиоксидантными свойствами [32]. Опухоли и корковое вещество почек не различались между собой по концентрации в их липидах витамина А, что свидетельствует об избирательном накоплении жирорастворимых витаминов в раковой ткани.

При исследовании ПОЛ, инициированного аскорбатом, нами [11] была отмечена чрезвычайно низкая активность этих процессов в карциномах почек больных по сравнению с интактной корой, что, по всей вероятности, было обусловлено высоким содержанием в них α -токоферола. Наши результаты согласуются с данными иммуногистохимического исследования ПКР человека, в котором белки, модифицированные 4-ГНЕ, вторичным продуктом ПОЛ, обнаруживались в раковых клетках в меньшем количестве, чем в интактных канальцевых клетках, что предполагает более низкую активность ПОЛ в опухолевой ткани [13].

В то же время в одной из более ранних работ [33] было показано присутствие в ткани ПКР больных в повышенном количестве как 8-(ОН)-ДГ, окисленного основания ДНК, так и белков, модифицированных 4-ГНЕ, что, по мнению авторов, свидетельствует о конституциональной способности раковых клеток почек к активной наработке АФК. Поскольку дегенеративные изменения в этих клетках отсутствовали, было высказано предположение об их подготовленности к окислительному стрессу за счет увеличения или активности АОФ или содержания антиоксидантов. Исходя из наших данных, следует признать, что такая подготовленность могла быть обеспечена высоким уровнем в клеточных липидах α -токоферола. Активность же АОФ в раковых клетках почек и других органов в большинстве случаев снижена, что будет подробно рассмотрено ниже.

Помимо ПКР, повышенное содержание жирорастворимых антиоксидантов было обнаружено в злокачественных опухолях женской половой сферы [12]. Так, в карциномах шейки матки и эндометрия уровень витамина Е был в 5-30 раз выше, чем в прилежащей нераковой ткани. Опухоли молочной железы и яичника содержали больше бета-каротина, чем соответствующие здоровые ткани (в 7 и 1,5 раза, соответственно), при отсутствии увеличения концентрации α -токоферола. Авторы предполагают наличие при канцерогенезе повышенной клеточной утилизации антиоксидантов, причем подчеркивается органоспецифичность их потребления. Однако, эти исследования имеют тот существенный недостаток, что концентрация жирорастворимых антиоксидантов рассчитывалась только на вес ткани, без учета содержания в ней липидов, определение которых не проводилось. Фактическая же концентрация α -токоферола и бета-каротина может оказаться другой, если уровень липидов в опухолях не соответствует таковому в гомологичных нормальных тканях. Другие исследователи [34], не обнаружившие разницы между содержанием α -токоферола в раковой и нераковой тканях молочной железы, обоснованно предполагают, что их результаты могли быть более точными, если бы расчет концентрации витамина проводился на мг клеточных липидов.

Противоречивость результатов, относящихся к содержанию антиоксидантов в опухолях одних и тех же органов, обусловлена не только недостаточно адекватным выражением их концентрации, но и различиями в гистологическом типе

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

исследованных карцином и в стадиях их развития. Так, по данным одних авторов [12], содержание α -токоферола в карциномах шейки матки (без указания гистологической формы) в 7 раз превышало нормальный уровень, а, согласно другим исследователям [35], уровень α -токоферола в чешуйчатоклеточных карциномах и аденокарциномах шейки матки был достоверно ниже, чем в нормальной ткани, и наименьшие значения его обнаруживались у больных с III - IV стадиями рака. Dimitrov и соавт. [36] отметили тенденцию к более высокому содержанию α -токоферола в раковой ткани молочной железы, имевшей рецепторы к эстрогенам, по сравнению с аналогичной тканью, лишенной этих рецепторов.

Представляет интерес исследование Gerber и соавт. [37], в котором было показано, что у женщин с раком яичника или ободочной кишки и у мужчин с раком прямой кишки содержание в крови витамина Е (на мг холестерина) было достоверно выше, а концентрация малонового диальдегида, вторичного продукта ПОЛ, ниже, чем у соответствующего возрастного контроля. Авторы считают, что благодаря таким изменениям в антиоксидантном статусе больных создаются условия для прогрессирования злокачественного процесса.

Помимо жирорастворимых антиоксидантов, в некоторых карциномах человека было обнаружено повышенное содержание водорастворимых соединений с антиоксидантными свойствами. Так, в раковой ткани молочной железы женщин уровень глутатиона был в 2-3 раза выше, а в метастазах опухоли в лимфоузлы - в 4 раза выше, чем в интактной железистой ткани при выражении данных как на мг белка, так и на мг ДНК [34, 38]. Высокое содержание глутатиона, наблюдавшееся в метастазах опухоли, авторы склонны признать маркером клеток, способных к диссеминации [38]. В раковой ткани молочной железы повышенным (в среднем в 3 раза) оказался и уровень другого водорастворимого антиоксиданта - аскорбиновой кислоты [34]. Имеются данные о высоком содержании глутатиона в некоторых чешуйчатоклеточных карциномах легких [39]. Исследователи [38, 39] отмечают значительную гетерогенность по уровню глутатиона различных клеточных субпопуляций, чем объясняются большие колебания его содержания в пробах, забираемых из разных участков одной и той же опухоли. Антиоксидантное защитное действие глутатиона было продемонстрировано в опытах на 2 линиях злокачественных клеток человека: рака шейки матки (HeLa) и меланомы [40]. При инкубации в среде с высоким содержанием H_2O_2 почти все клетки HeLa погибали, в то время как клетки меланомы были резистентны к такому токсическому воздействию. Оказалось, что уровень глутатиона и активность ГПО в клетках меланомы были достоверно выше (в 10 и 1,5 раза, соответственно), чем в клетках HeLa.

Содержание антиоксидантов в злокачественных опухолях может влиять на их чувствительность к терапевтическому воздействию. Предполагается, что повышенная антиоксидантная защита будет снижать чувствительность карцином к радиационной терапии, в основе которой лежит повреждение злокачественных клеток за счет образования в них большого количества АФК и других СР. Цитотоксичность многих химиотерапевтических агентов также основывается на генерации в раковых клетках гидроксильных и перекисных СР [41, 42]. Не исключено, что хорошо известная резистентность ПКР к лучевой терапии и химиотерапевтическим воздействиям [43-45], может быть, хотя бы частично, обусловлена аккумуляцией в опухолевой ткани антиоксиданта α -токоферола. В формировании резистентности к терапии могут участвовать и водорастворимые антиоксиданты. Так, при исследовании злокачественных опухолей головного мозга было показано [42], что радиочувствительные глиобластомы имели более низкий уровень глутатиона, чем нормальная мозговая ткань. В то же время менингиомы, относящиеся к радиорезистентным опухолям, по содержанию глутатиона достоверно превосходили глиобластомы.

Возможные механизмы влияния антиоксидантов на опухолевый рост.

Приведенные данные о повышенном содержании антиоксидантов в некоторых опухолевых тканях человека и индуцированных опухолях животных

позволяют предположить адекватную защиту злокачественных клеток от СРО, что может благоприятствовать их пролиферации. Действительно, имеется ряд экспериментальных работ, свидетельствующих о стимуляции канцерогенеза α -токоферолом и его эфирами. Так, нагрузка белых мышей α -токоферилацетатом посредством добавления его к корму увеличивала число опухолей в различных отделах кишечника, индуцируемых 1,2-диметилгидразиндигидрохлоридом [30], а пребывание крыс на диете, дефицитной по витамину Е, тормозило развитие аденокарцином кишечника, индуцированных диметилнитрозоамином [46]. Длительные (в течение 52 дней) подкожные инъекции α -токоферола или α -токоферилацетата в соевом масле линейным мышам и крысам приводили к развитию у 40-60% животных перевиваемых фибросарком кожи без применения какого-либо канцерогена [47]. α -Токоферол при аппликации на кожу мышей, у которых опухоли инициировали 7,12-диметилбенз/а/антеном (7, 12-ДМБА), действовал как полный промотор карцином кожи, приближавшийся по эффективности к такому известному промотору как тетрадеконоилфороболацетат [48]. Ацетат или сукцинат α -токоферола, наносившиеся на кожу мышей до индукции опухолей и в процессе фотоканцерогенеза, усиливали его [31], в связи с чем авторы высказывают обеспокоенность по поводу применения косметических средств, содержащих эфиры витамина Е. Нам в выше упомянутых опытах [9] не удалось обнаружить влияния α -токоферилацетата, вводимого внутривентриально, на частоту случаев рака почки у крыс, однако у животных, получавших витамин, была отмечена тенденция к укорочению латентного периода развития опухолей.

В то же время, в литературе имеются данные, свидетельствующие о противоопухолевом эффекте витамина Е и других антиоксидантных витаминов (А, С и бета-каротина). Так, антипролиферативное действие α -токоферилсукцината было продемонстрировано на растущих в культуре лейкемических клетках мышей [49]. Местное применение α -токоферилацетата уменьшало число случаев рака слизистой полости рта, индуцированного у сирийских хомячков посредством 7,12-ДМБА [50]. Другой жирорастворимый антиоксидант, бета-каротин, использованный в этой же модели местно в составе липосом, вызывал регрессию карцином слизистой, причем раковые клетки захватывали липосомы более активно, чем нормальные [51]. Повторные аппликации на кожу мышей α -токоферола как такового, в отличие от применения его эфиров, снижали число случаев карцином, вызванных ультрафиолетовым облучением [52], возможно, за счет иммуностимулирующего действия витамина, о котором сообщают и другие авторы [53]. Однако широкое использование этой формы витамина Е ограничено из-за ее нестойкости. Частота случаев рака поджелудочной железы, индуцированного у сирийских хомячков посредством N-нитроз-бис-2-оксопропиламина, была достоверно ниже у тех из них, кто получал пероральную нагрузку витаминами А или С, и имела тенденцию к снижению при применении α -токоферола [54].

В последние годы активно исследуется механизм противоопухолевого эффекта антиоксидантных витаминов. Используемые в высоких концентрациях они были способны инициировать ряд молекулярных процессов, ведущих к апоптозу (запрограммированной клеточной смерти), ингибции роста и дифференцировке раковых клеток, в которых витамины накапливались в больших количествах, чем в нормальных клетках. Так, стимуляция апоптоза α -токоферилсукцинатом была продемонстрирована на линиях раковых клеток молочной железы человека и Т-клеточной лимфомы мышей [55, 56]. При этом отмечались конденсация и фрагментация хроматина, появление в культуре большого количества клеток с признаками деградации ДНК. Наиболее выраженное апоптотическое действие оказывало на злокачественные клетки совместное применение нескольких витаминов и их предшественников (α -токоферилсукцината, витамина С, ретиноевой кислоты и полярных ретиноидов). Введение этих витаминов в культуру нормальных клеток никогда не

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

усиливало их апоптоз [57]. Авторы подчеркивают [58], что способность витаминов инициировать апоптоз зависит от их типа, дозы, химической формы, а также от типа злокачественных клеток, и высказывают предположение, что антиоксидантные витамины могут повышать экспрессию в раковых клетках генов, индуцирующих запрограммированную смерть. Одновременно авторы признают, что в ряде случаев витамины, использованные в относительно невысоких дозах, могут оказывать антиапоптотический эффект, который также, по-видимому, обусловлен вышеперечисленными факторами и осуществляется за счет экспрессии в клетках генов, усиливающих пролиферацию. Анализируя более поздние исследования, авторы пришли к заключению, что витамины А, Е, С и каротиноиды в опытах *in vitro* индуцируют дифференцировку и тормозят пролиферацию раковых клеток грызунов и человека посредством сложного механизма [59]. Он включает ингибицию активности протеинкиназы С [60], угнетение экспрессии ряда онкогенов и других факторов, стимулирующих клеточную пролиферацию, а также участие сигналов, опосредуемых фактором роста опухоли и его рецептором [56]. Имеют ли значение для реализации этих эффектов антиоксидантные свойства витаминов, остается не ясным.

Таким образом, способность антиоксидантных витаминов оказывать на злокачественные клетки как апоптотическое, так и антиапоптотическое действие позволяет объяснить противоречивость данных о влиянии их и, прежде всего α -токоферола, на опухолевый рост. Исходя из вышеизложенного, повышенное содержание этих витаминов в опухолях животных и человека можно рассматривать, с одной стороны, как защитную реакцию организма, направленную на стимуляцию апоптоза и ингибицию клеточной пролиферации, а с другой - как противодействие СРО, благоприятствующее злокачественному росту. По-видимому, в каждом отдельном случае от конкретных обстоятельств зависит, какие процессы (апоптотические или антиапоптотические) будут преобладать в злокачественных клетках под влиянием различных антиоксидантных витаминов, присутствующих в той или иной концентрации. В связи с этим следует согласиться с мнением Lee [61], который на основе эпидемиологических исследований приходит к заключению, что в предупреждении злокачественных новообразований у человека большее значение имеет диета, богатая овощами и фруктами и содержащая натуральные антиоксидантные витамины в естественных дозировках, чем применение их препаратов.

Антиоксидантные ферменты при злокачественном росте. Важным звеном защиты клеток от СРО являются антиоксидантные ферменты (АОФ), нейтрализующие СР в самом начале их возникновения. Sun [2] разделяет их на основные и вспомогательные. К первым он относит Cu,Zn-содержащую супероксиддисмутазу (Cu,Zn-СОД), Mn-содержащую СОД (Mn-СОД), каталазу (КАТ) и ГПО, которые непосредственно вовлекаются в элиминацию АФК. К вспомогательным АОФ относятся глутатион-S-трансфераза (GST) с ее многочисленными изоформами, ГР и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ). Они способствуют детоксикации АФК посредством снижения уровня органических гидроперекисей, что осуществляется GST, или путем обеспечения основных АОФ донорами электронов, такими как глутатион и NADPH.

Было показано, что АОФ способны противодействовать окислительному повреждению ДНК и трансформации клеток благодаря инактивации многих мутагенов, которые сами продуцируют СР или стимулируют их продукцию [2, 3]. Однако уже трансформированные, злокачественные клетки имеют, как правило, низкий уровень и нарушенный баланс АОФ, в результате чего они не способны эффективно удалять СР. Так, Sun и соавт. [62] нашли, что в клетках печени мышей, трансформированных посредством химических агентов или вирусов, активность почти всех вышеперечисленных АОФ была достоверно снижена по сравнению с нормальными гепатоцитами при выражении результатов на единицу веса белка, ДНК или на равное число клеток.

Анализ исследований АОФ в опухолях животных и человека позволил выделить основные тенденции в изменении их активности [2]. В большинстве опухолей отмечалось снижение активности Cu,Zn-СОД, Mn-СОД и КАТ, активность GST и Г6ФДГ могла быть повышена, активность же ГПО и ГР сильно варьировала в зависимости от органной принадлежности опухоли и ее гистологического типа. С этими результатами согласуются более поздние данные, относящиеся к активности и экспрессии АОФ в опухолевых тканях [63]. Повышение активности в опухолях отдельных АОФ авторы рассматривают как заместительную реакцию в ответ на снижение активности других. Это приводит к дисбалансу АОФ и, как следствие, к наработке АФК некоторыми злокачественными клетками.

В качестве примера такого дисбаланса можно привести исследование АОФ в карциномах толстого кишечника и прямой кишки человека [64], в которых было обнаружено снижение активности КАТ при одновременном значительном увеличении активности Cu, Zn-СОД. Хотя активность ГПО также была повышена, однако уровень ее кофактора, глутатиона, был низким. Несбалансированность системы АОФ в опухолях кишечника, отмеченная и другими исследователями [65], приводит, по-видимому, к накоплению в раковых клетках H_2O_2 и окислительному стрессу. Именно этим авторы объясняют наличие в опухоли повышенного количества ДНК с основаниями, подвергшимися окислительной модификации, и вторичных продуктов ПОЛ. Присутствие в раковых клетках в достаточном количестве неферментных антиоксидантов могло бы, по мнению авторов, ингибировать свободнорадикальные процессы. Однако содержание витаминов Е, С и глутатиона в раковой ткани оказалось сниженным по сравнению с нераковой слизистой кишечника.

Что касается рака почки человека, то в ткани опухоли были исследованы как активность АОФ, так и их экспрессия, определявшаяся по уровню соответствующего иммунореактивного белка. В одной из ранних работ [66] было продемонстрировано почти четырехкратное снижение активности КАТ в ткани светлоклеточного рака по сравнению с прилежащей нераковой тканью. Иммуногистохимическими методами было обнаружено [67] уменьшение экспрессии КАТ, Cu, Zn-СОД, Mn-СОД, ГПО и некоторых изоферментов GST в ткани светлоклеточного рака почки, рака сосочков и переходноклеточного рака лоханки. В клетках же зернистоклеточного рака почки отмечалось увеличение экспрессии Mn-СОД и некоторых субъединиц GST. Снижение экспрессии в ткани ПКР человека GST-π [68, 69], изофермента, характерного для эпителия проксимальных канальцев, а также YST-р, менее характерного для этих канальцев [68, 70], признается проявлением дедифференцировки эпителиальных клеток в ходе канцерогенеза. Низкая активность АОФ (КАТ, Cu, Zn-СОД и Mn-СОД) обнаруживалась и в карциномах почек сирийских хомячков, индуцированных эстрогенами [71].

Следует подчеркнуть, что несмотря на снижение активности и экспрессии АОФ в опухолях почки человека, процессы ПОЛ в них, по данным ряда авторов [11, 13], не были активизированы, возможно, из-за аккумуляции в раковой ткани α-токоферола.

Помимо почечных неоплазм, выраженное снижение активности и экспрессии АОФ (КАТ, ГПО, СОД) наблюдалось в ткани легочных карцином человека [63, 72]. Одновременно в них отмечали и повышенное количество ДНК с азотистыми основаниями, подвергшимися свободнорадикальному окислению [72]. Уменьшение активности КАТ и общей СОД, увеличение концентрации малонового диальдегида при умеренно сниженном уровне витамина Е и глутатиона было обнаружено в ткани карцином шейки матки [35]. В раковой ткани простаты экспрессия КАТ, Cu, Zn-СОД, Mn-СОД была более низкой, чем в прилежащей гиперплазированной, но доброкачественной ткани, причем наблюдалась значительная гетерогенность участков одной и той же опухоли по содержанию иммунореактивных белков АОФ [73].

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

На связь между злокачественной трансформацией и активностью АОФ указывают эксперименты, выполненные на культивируемых клетках. Трансфекция кДНК Мп-СОД в клетки меланомы человека, неспособные синтезировать этот фермент, приводила к восстановлению его синтеза и одновременно к подавлению злокачественного фенотипа. Этот результат подтверждался в опытах *in vivo*: при введении трансфецированных клеток бестимусным мышам у них не наблюдалось развития опухолей [74]. Прохожие данные были получены на культивируемых клетках фибросаркомы мышей [75] и рака молочной железы человека [76]. Предполагается, что гиперэкспрессия Мп-СОД может стимулировать в раковых клетках повышенную продукцию H_2O_2 , которая вызывает сублетальное повреждение клеток или влияет на некоторые процессы внутриклеточной сигнализации, обеспечивающие торможение пролиферации [63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, приведенные данные демонстрируют сложность и недостаточную изученность проблемы злокачественного роста и антиоксидантной защиты опухолевых клеток. Способность некоторых из них к наработке АФК, низкая активность и дисбаланс АОФ, необходимость поддерживать свободнорадикальные процессы на уровне, обеспечивающем выживание клеток, вот те факторы, которые, возможно, обуславливают накопление в злокачественных тканях низкомолекулярных антиоксидантов. Наличие повышенных количеств различных антиоксидантов (жиро- и водорастворимых) в опухолях человека и экспериментальных животных свидетельствует об органоспецифичности их потребления в ходе канцерогенеза и отражает неоднородность неопластических процессов в различных органах. Однако, чтобы получить точное представление об обеспеченности тканей антиоксидантами, необходимо рассчитывать их содержание не только на единицу веса ткани, но и относить концентрацию антиоксиданта к более стабильному и специфическому тканевому компоненту - содержанию липидов для жирорастворимых антиоксидантов, белка или ДНК - для водорастворимых. Можно предположить, что если бы достаточный антиоксидантный потенциал удалось создать на ранних этапах трансформации клеток (инициации и промоции), то это позволило бы предупредить или ограничить развитие опухоли. Вмешательство же с помощью антиоксидантов (ферментных и неферментных) в уже существующий опухолевый процесс требует большой осторожности, так как может привести к его стимуляции и развитию резистентности злокачественных клеток к химиотерапевтическим препаратам и ионизирующему излучению. Следует также иметь ввиду, что высокое содержание в некоторых опухолях α -токоферола и других антиоксидантных витаминов, может рассматриваться не только как адекватная защита клеток от окислительного стресса, способствующая злокачественному росту, но и как обстоятельство, ему противодействующее из-за возможной стимуляции апоптоза трансформированных клеток и ингибции ряда факторов клеточной пролиферации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. (1986) Пат. физиол., № 5, 85-92
2. Sun Y. (1990) Free Radic. Biol. Med., **8**, 583-599.
3. Dreher D., Junod A.F. (1996) Europ. J. Cancer, **32** A, 30-38.
4. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoi J., Hiai H. (1995) FEBS Letters, **358**, 1-3.
5. Kondo S., Toyokuni S., Iwasa Y., Tanaka T., Onodera H., Hiai H., Imamura M. (1999) Free Radic. Biol. Med., **27**, 401-410.
6. Corgel P., Morel J., Lescoat G., Chevanne M., Brissot P., Cillard P., Cillard J. (1993) Lipids, **28**, 115-119.

7. *Dianzani M.U.* (1993) Critic. Rev. Oncol. Hematol., **15**, 125-147.
8. *Нейфах Е.А.* (1978) Исследование системы витаминов Е и F в процессе злокачественного роста. Автореф. дис. канд. биол. наук.-Москва
9. *Никифорова Н.В., Яненко Э.К., Кирпатовский В.И., Чумаков А.М., Конькова Т.А., Черткова А.И., Берман А.Е.* (1998), Вопр. мед. химии, **44**, №2, 158-166.
10. *Никифорова Н.В., Кирпатовский В.И., Чумаков А.М., Даренков А.Ф.* (1993) Бюлл. эксп. биол. мед., № 3, 290-293.
11. *Никифорова Н.В., Ходырева Л.А., Кирпатовский В.И., Чумаков А.М.* (2001) Бюлл. эксп. биол. мед., № 11, 565-568
12. *Palan P.R., Goldberg G.L., Basu J., Runowicz C.D., Ronney S.L.* (1994) Gynecol. Oncol., **55**, 72-77.
13. *Oberley T.D., Toyokuni S., Szweda L.I* (1999) Free Radic. Biol. Med., **27**, 695-703.
14. *Begin M.E., Ellis G., Das U.N., Horrobin D.F.* (1986) JNCI, **77**, 1053-1060.
15. *Begin M.E., Ellis G., Horrobin D.F.* (1988) JNCI, **80**, 188-194.
16. *Das U.N.* (1991) Cancer Letter, **56**, 225-243.
17. *Takeda S., Sim P.G., Horrobin D.F., Sanford T., Chisholm K.A., Simmons V.* (1993) Anticancer Res., **13**, 193-200.
18. *Listad E., Hostmark A.T., Kiserud C., Haugen A.* (1994) In vitro Cell Dev. Biol. Anim. **30** A, 560-573.
19. *Chajes V., Sattler W., Stranzl A., Kostner G.M.* (1995) Breast Cancer Res. Treat., **34**, 199-212.
20. *Gonzalez M.J., Schemmel R.A., Dugan L., Gray J.I., Welsch C.W.* (1993) Lipids, **28**, 827-832.
21. *Szatrowski T.P., Nathan C.F.* (1991) Cancer Res., **51**, 794-798.
22. *O'Donnell-Tormey J., Deboer C.J., Nathan C.F.* (1985) J. Clin. Invest., **76**, 80-86.
23. *Wolf R., Wolf D., Ruocco V.* (1998) J. Europ. Acad. Dermat. Vener., **10**, 103-117
24. *Rice-Evans C. and Burdon R.* (1993) Prog. Lipid Res., **32**, 71-110.
25. *Swick R.W. and Bauman C.A* (1951) Cancer Res., **11**, 948-953.
26. *Буробина С.А., Нейфах Е.А.* (1970) В сб: Физико-химические механизмы злокачественного роста. Доклады МОИП Наука, Москва, с.56-61.
27. *Cheesman K.H., Collins M., Proudfoot K., Slater T., Burton C.W., Webb A.C., Ingold K.U.* (1986) Biochem. J., **235**, 507-514.
28. *Nikiforova N.V., Kirpatovsky V.I., Darenkov A.F., Chumakov A.M., Sevrukov E.A., Darenkov S.P.* (1995) Nephron, **69**, 449-453.
29. *Никифорова Н.В., Чумаков А.М., Кирпатовский В.И., Комарова В.А.* (1996) Урология и нефрология, № 6, 23-27.
30. *Toth B., Patil K.* (1983) JNCI, **70**, 1107-1111.
31. *Gensler H.L., Aickin M., Peng Y-M., Xu M.* (1996) Nutr. Cancer, **26**, 183-191.
32. *Кондрусев А.И., Спиричев В.Б., Четков К.С., Романенко Т.В.* (1990) Хим.-фарм. журн., № 3, 4-11.
33. *Okamoto K., Toyokuni S., Uchida K., Ogawa O., Takenawa J., Kakehi Y., Kinoshita H., Hattori-Nakakuki Y., Hiai H., Yoshida O.* (1994) Int. J. Cancer, **58**, 825-829.
34. *Langemann H., Torhorst J., Kabiersch A., Krenger W., Honegger C.G.* (1989) Int. J. Cancer, **43**, 1169-1173.
35. *Ahmed M.I., Fayed S.T., Hossein H., Tash F.M.* (1999) Disease Markers, **15**, 283-291.
36. *Dimitrov N.V., Pan R-Q., Bauer J., Jones T.I.* (1994) Adv. Exp. Med. Biol., **364**, 119-127
37. *Gerber M., Astre C., Segala C., Saintot M., Scali J., Simoni-Lafontaine J., Grenier J., Pujol H.* (1996) J. Nutr., **126**, 1201S-1207S.
38. *Perry R.R., Mazetta J., Levin M., Barranco S.C.* (1993) Cancer, **72**, 783-787.
39. *Cook J.A., Pass H.I., Iype S.N., Friedman N., DeGraff W., Russo A., Mitchell J.B.*

АНТИОКСИДАНТЫ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

- (1991) Cancer Res., **51**, 4287-4294.
40. Porta C., Moroni M., Guallini P., Torri C., Marzatico F. (1996) Anticancer Res., **16**, 2741-2748.
41. Бурлакова Е.Б., Пальмина Н.П. (1990) Вопр. онкол., № 10, 1155-1161.
42. Kudo H., Mio T., Kokunai T., Tamaki N., Sumino K., Matsumoto S. (1990) J. Neurosurg., **72**, 610-615.
43. Hienert G., Latal D., Huchbock J., Rummelhardt S. (1987) Z. Urol. Nephrol., **80**, 669-674.
44. Мамвеев Б.П. (1995) Пленум Всероссийск. об-ва урологов. Тез. докл., Кемерово, с.38-40.
45. Chapman A.E., Goldstein L.J. (1995) Seminars in Oncology, **22**, 17-28.
46. McIntosh G.H. (1992) Nutr. Cancer, **17**, 47-55.
47. Nitta Y., Kamiya K., Tanimoto M., Sadamoto S., Niwa O., Yokoro K. (1991) Jpn. J. Cancer Res., **82**, 511-517.
48. Mitchel R.E., McCann R. (1993) Carcinogenesis, **14**, 659-652.
49. Fariss M.W., Fortuna M.B., Everett C.K., Smith J.D., Trent D.F., Djuric Z. (1994) Cancer Res., **54**, 3346-3351.
50. Shklar G., Schwartz J.L., Trickler D.P., Reid S. (1990) J. Oral. Pathol. Med., **19**, 60-64.
51. Schwartz J.L., Flynn E., Trickler D., Shklar G. (1991) Nutr. Cancer, **16**, 107-124.
52. Gensler H.L., Magdaleno M. (1991) Nutr. Cancer, **15**, 97-106.
53. Meydani S.N., Meydani M., Blumberg J.B., Leka L.S., Siber G., Loszewski R., Thompson C., Pedrosa M.C., Diamond R.D., Stollar B.D. (1997) JAMA, **277**, 1380-1386.
54. Wenger F.A., Kilian M., Ridders J., Stahlknecht P., Schimke I., Guski H., Jacobi C.A., Muller J.M. (2001) Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **65**, 165-171.
55. Yu W., Sanders B.G., Kline K. (1997) Nutr.Cancer, **27**, 92-101.
56. Yu W., Heim K., Quian M., Simmons-Menchaca M., Sanders B.G., Kline K. (1997) Nutr. Cancer, **27**, 267-278.
57. Prasad K.N., Kumar R. (1996) Nutr. Cancer, **26**, 11-19.
58. Cole W.C., Prasad K.N. (1997) Nutr. Cancer, **29**, 97-103.
59. Prasad K.N., Kumar A., Kochupillai V., Cole W.C. (1999) J.Am. Coll. Nutr., **18**, 13-25.
60. Chatelain E., Boskoboinik D.O., Kagan V.E., Gly F.K., Packec L., Azzi A. (1993) Biochim. Biophys. Acta, **1176**, 83-89.
61. Lee I-M. (1999) Proc.Ass. Am. Physicians, **111**, 10-15.
62. Sun Y., Oberley L.W., Elwell J.H., Sierra-Rivera E. (1989) Int. J. Cancer, **44**, 1028-1033.
63. Oberley T.D., Oberley L.W. (1997) Histol. Histopathol., **12**, 525-535.
64. Skrzydlewska E., Stankiewicz A., Sulkowska M., Sulkowski S., Kasacka I. (2001), J.Toxicol. Environ. Health., A, **64**, 213-222.
65. Ozdemirler G., Pabuccuoglu H., Bulut T., Bugra D., Uysal M., Toker G. (1998) J.Cancer. Res. Clin. Oncol., **124**, 555-559.
66. Wickramasinghe R., Reddy P.R., Klein L., Villee C.A. (1976) Clin. Biochem., **9**, 24-25.
67. Oberley T.D., Sempt J.M., Oberley L.W. (1996) Histol. Histopathol., **11**, 153-160.
68. Klone A., Wiedner U., Hussnatter R., Harris J., Meyer D., Peter S., Ketterer B., Sies H. (1990) Carcinogenesis, **11**, 2179-2183.
69. Di Ilio C., Aceto A., Bucciarelli T., Angelucci S., Felaco M., Grilli A., Zezza A., Tenaglia R., Federici G. (1991) Carcinogenesis, **12**, 1471-1475.
70. Grignon D.J., Abdel-Malak M., Mertens W.C., Sakr W.A., Shepherd R.R. (1994) Mol. Pathol., **7**, 186-189.
71. McCormick M.L., Oberley T.D., Elwel J.H., Oberley L.W., Sun Y., Li J.J. (1991) Carcinogenesis, **12**, 977-983.

72. Jaruga P., Zastawny T.H., Skokowski J., Dizdaroglu M., Olinski R. (1994), *FEBS Lett*, **341**, 59-64.
73. Baker A.M., Oberley L.W., Cohen M.B. (1997) *Prostate*, **32**, 229-233.
74. Church S.L., Grant J.W., Ridnour L.A., Oberley L.W., Swanson P.E., Meltzer P.S., Trent J.M. (1993) *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **90**, 3113-3117.
75. Safford S.E., Oberley T.D., Urano M., St Clair D.K. (1994) *Cancer Res.*, **54**, 4261-4265.
76. Li J.J., Oberley L.W., St Clair D.K., Ridnour L.A., Oberley T.D. (1995) *Oncogene*, **10**, 1989-2000.

Поступила 30.12.02

ANTIOXIDANTS IN MALIGNANT HUMAN AND EXPERIMENTAL TUMORS

N.V. Nikiforova¹, A.E. Berman²

¹Institute of Urology, Ministry of Public Health Care of Russian Federation, 3-d Parkovaya Str. 51,
105425 Moscow, Russia

²Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry RAMS, Pogodinskaya Str. 10,
119121 Moscow, Russia

This review is devoted to the role of low molecular weight antioxidants and antioxidant enzymes in cancerogenesis. The data on accumulation of lipid-soluble and water-soluble antioxidants in a number of malignant human and experimental tumors especially in the renal cell carcinoma tissues are analyzed. A possibility is discussed concerning the pro- and anticarcinogenic effects of the abundant tumor content of antioxidants. Implication of antioxidants in tumor resistance to chemotherapeutic drugs and ionizing radiation is discussed.

Key words: carcinogenesis, antioxidants, antioxidative enzymes, apoptosis, renal cell cancer