

MAGDALENA KĘDZIERSKA, BEATA OLAS

*Katedra Biochemii Ogólnej
Uniwersytet Łódzki
Pomorska 141/3, 90-236 Łódź
E-mail: olasb@biol.uni.lodz.pl*

STRES OKSYDACYJNY W RAKU PIERSI

WPROWADZENIE

Stres oksydacyjny definiowany jest na wiele sposobów. Zjawisko to najczęściej określa się jako brak równowagi między powstającymi reaktywnymi formami tlenu czy azotu (RFT/RFA) (Tabela 1), a zdolnościami antyoksydacyjnymi organizmu (PUNNONEN i współaut. 1994, RAY i HUSAIN 2001, DELIMARIS i współaut. 2007, OLAS i WACHOWICZ 2007, KULBACKA i współaut. 2009, NOWAK i współaut. 2010, OLAS i współaut. 2010). W warunkach fizjologicznych każdego dnia powstają pewne ilości reaktywnych form tlenu i azotu, jako wynik wielu procesów biochemicznych. Endogennym, naturalnym źródłem RFT/RFA jest normalny metabolizm komórkowy. Przyjmuje się, iż w zdrowym organizmie człowieka w przeciągu roku może powstać do 2 kg anionorodnika ponadtlenkowego. Egzogennymi źródłami RFT/RFA są: promieniowanie jonizujące czy UV oraz czynniki chemiczne (ZAREMBA i OLIŃSKI 2010). Okazuje się, że jako produkty uboczne metabolizmu komórkowego RFT/RFA są nieodzownymi elementami, bez których niektóre procesy nie mogą zachodzić. Jednak ważne jest, aby ich stężenie było na optymalnym poziomie, ponieważ każda nadprodukcja skutkuje niepożądanymi konsekwencjami. Badania wykazują, że RFT/RFA mogą być strukturami groźnymi dla naszego organizmu, ale także mogą spełniać rolę obrońców organizmu dzięki zjawisko „wybuchu oddechowego” (OLAS i WACHOWICZ 2007, ERTEN-SENER i współaut. 2007, NOWAK i współaut. 2010).

Już od wielu lat wiadome jest, że RFT i RFA są inicjatorami wielu szkodliwych zmian w komórkach, poprzez fakt, że jako czynniki wysoce reaktywne wchodzą w reakcję z białkami, lipidami, DNA, zmieniając przy tym ich strukturę oraz biologiczne funkcje. Peroksydacji ulegają przede wszystkim białka i lipidy. Zmiany oksydacyjne w białkach spowodowane przez RFT/RFA mogą obejmować: nitrowanie reszt aminokwasów aromatycznych, utlenianie grup tiolowych i przekształcanie niektórych reszt aminokwasowych w pochodne karbonylowe. Badania potwierdzają związek między obecnością zbyt dużej ilości RFT/RFA a rozwojem procesów patologicznych, stanów zapalnych oraz nowotworów (GONENC i współaut. 2006, DELIMARIS i współaut. 2007, ERTEN-SENER i współaut. 2007, KASAPOVIĆ i współaut. 2008, HAMO-MAHMOOD i współaut. 2009, KĘDZIERSKA i współaut. 2009). W sytuacji nadprodukcji RFT lub RFA organizm uruchamia mechanizmy, których zadaniem jest „zmiatanie” wolnych rodników. Można więc stwierdzić, że zanim dojdzie do powstania stresu oksydacyjnego czy nitracyjnego, RFT/RFA niszczone są przez naturalną tarczę obronną. Fizjologiczna produkcja wolnych rodników kontrolowana jest na drodze enzymatycznej oraz nieenzymatycznej. W walce ze skutkami reakcji między RFT a komponentami komórkowymi uczestniczy wiele związków. Poza tym, komórki są tak zbudowane, że istnieje izolacja miejsc z nadmierną produkcją RFT, a najważniejszym źródłem endogennych RFT

Tabela 1. Wybrane reaktywne formy tlenu i azotu (zmodyfikowano wg NOWAK i współaut. 2010, OLAS i WACHOWICZ 2007).

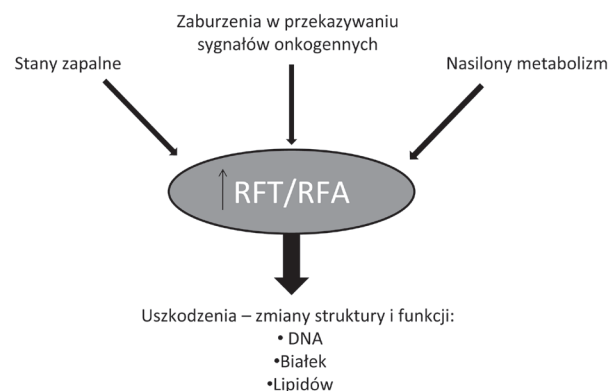
	Nazwa	Symbol
Rodnikowe pochodne tlenu i azotu	Rodnik hydroksylowy	$\cdot\text{OH}$
	Anionorodnik ponadtlenkowy	$\text{O}_2^{\cdot-}$
	Tlenek azotu	$\text{NO}\cdot$
	Ditlenek azotu	$\text{NO}_2\cdot$
	Rodnik wodoronadtlenkowy	$\text{HO}_2^{\cdot-}$
	Rodnik alkoksylowy	$\text{RO}\cdot$
	Rodnik nadtlenkowy	$\text{ROO}\cdot$
Nierodnikowe pochodne tlenu i azotu	Tlen singletowy	$^1\text{O}_2$
	Nadtlenek wodoru	H_2O_2
	Nadtlenoazotyn	$\text{ONOO}\cdot$
	Kwas podchlorawy	HOCl

są mitochondria. W skład antyoksydacyjnej maszyneryi enzymatycznej wchodzi m.in.: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) oraz reduktaza glutationowa (GP) (NOWAK i współaut. 2010). Każdy z tych enzymów odgrywa znaczącą rolę w obronie organizmu przed szkodliwym działaniem wolnych rodników. Sprawne funkcjonowanie enzymów antyoksydacyjnych pomaga w utrzymaniu równowagi pro- i antyoksydacyjnej w przypadku chorób, w których następuje zwiększenie wytwarzania wolnych rodników (RAY i HUSAIN 2001, GONENC i współaut. 2006, NOWAK i współaut. 2010). Jednak ochrona organizmu przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu i azotu nie odbywa się tylko i wyłącznie poprzez katalityczny ich rozkład. „Zmiatanie” w sposób nieenzymatyczny, wolnych rodników obejmuje również działanie substancji niskocząsteczkowych, nazywanych antyoksydantami. Do grupy tych związków zalicza się: glutation, witaminę A, C, E, bilirubinę, kwas moczowy, flawonoidy, karotenoidy, itp. (KULBACKA i współaut. 2009, GONENC i współaut. 2006, OLAS i współaut. 2010, ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009).

W przebiegu ostatnich lat stres oksydacyjny i nitracyny stał się przedmiotem wielu badań i dyskusji. Skupiano się na jego udziale w powstawaniu niektórych stanów patologicznych, w tym również nowotworów. W różnych stanach patologicznych stwierdzono m.in.: podwyższone stężenie produktów peroksydacji lipidów, zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężeń fi-

zjologicznych antyoksydantów. Świadczy to o zaburzeniach mechanizmów obronnych, które nie są w stanie zwalczyć nadprodukcji wolnych rodników indukowanej działaniem czynników chorobotwórczych oraz oddziaływań zewnętrznych (KULBACKA i współaut. 2009, ROBERTS i współaut. 2009).

Wiele naukowych doniesień sugeruje, że zmiany w równowadze prooksydacyjnej/antyoksydacyjnej na korzyść strony prooksydacyjnej są jedną z przyczyn postępującego procesu nowotworzenia. Dotychczas pojawiły się sugestie, że działanie mutagenów biorących udział w inicjacji karcynogenezy, związane może być z wytwarzaniem wolnych rodników. Ze względu na swą wysoką reaktywność wolne rodniki reagują m.in. z DNA, efektem czego może być powstawanie mutacji. Oznacza to, że RFT mają właściwości mu-



Ryc. 1. Wybrane przyczyny i skutki wzrostu poziomu RFT/RFA w komórkach nowotworowych (wg ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009).

tagenne i są czynnikami rakotwórczymi. Poza tym, badania wykazują, że komórki nowotworowe przejawiają permanentną obecność stresu oksydacyjnego, na skutek wyraźnie obniżonej aktywności niektórych enzymów antyoksydacyjnych. Dlatego uważa się, że zjawisko stresu zajmuje poważne miejsce w etiologii nowotworów oraz w innych jednostkach

chorobowych, takich jak: miażdżyca, choroba Alzheimera, Parkinsona, AIDS oraz wielu innych (PUNNONEN i współaut. 1994, ERTEN-SENER i współaut. 2007, KASAPOVIĆ i współaut. 2008, ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009, BADID i współaut. 2010). Wybrane przyczyny i skutki stresu oksydacyjnego w komórkach nowotworowych przedstawiono na Ryc. 1.

STRES OKSYDACYJNY W RAKU PIERSI

Według wielokrotnych badań nad różnymi nowotworami, w tym nad rakiem piersi wykazano, że jednym z czynników indukujących transformację nowotworową komórek jest wzmożona produkcja RFT/RFA. Do tej pory nie poznano do końca mechanizmów wytwarzania RFT/RFA w komórkach nowotworowych. Sugeruje się, że powstają one jako konsekwencja stanów zapalnych, działania cytokin, zaburzeń w przekazywaniu sygnałów onkogennych, aktywnego metabolizmu towarzyszącego nieustannej proliferacji oraz mutacji w mitochondrialnym DNA (mtDNA) (CHANDRAMATHI i współaut. 2009, ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009). Stres oksydacyjny jest nieodłącznym elementem nie tylko inicjacji, ale również progresji nowotworu. Wczesna faza nowotworu rozpoczyna się od uszkodzeń łańcucha DNA oraz zaburzeń w przebiegu procesów replikacji i transkrypcji. Już na tym etapie RFT/RFA mają udział jako czynniki mutagenne. Powodują one modyfikacje oksydacyjne zasad azotowych, których konsekwencją są mutacje punktowe w protoonkogenach i antyonkogenach. Geny te są m.in. odpowiedzialne za wzrost, podział, różnicowanie oraz adhezję komórek. Inicjacja karcynogenezy rozpoczyna się od aktywacji onkogenów oraz dezaktywacji genów supresorowych pod wpływem RFT/RFA (LIN JOANN i współaut. 2007, HIMMETOGLU i współaut. 2009, LAHIRI i MARTIN 2009). Pod wpływem wzrastającego stężenia RFT/RFA komórki mogą nabyć zdolność do transformacji nowotworowej lub dotychczasowe ich funkcje biologiczne są tak zmienione, że wchodzi one na drogę programowanej śmierci - apoptozy. Umiarkowany wzrost poziomu niektórych reaktywnych form tlenu i azotu może spowodować nasilenie procesów związanych ze wzrostem komórki oraz jej niekontrolowaną proliferacją, a tym samym przyczynić się do rozwoju nowotworu. Istotną rolę odgrywa H_2O_2 , którego wzmożoną produkcję zaobserwowano w komórkach

nowotworowych. W zależności od jego stężenia w komórce uruchamiane są mechanizmy proliferacyjne albo procesy prowadzące do jej apoptozy. Jeśli stężenie nadtlenu wodoru znacznie wzrośnie (powyżej 3 μM) komórka wchodzi na drogę nekrozy.

Tlenek azotu również uczestniczy w procesie nowotworzenia. Istnieją dowody sugerujące, że NO^* ma swój udział niemal na każdym etapie tego procesu. Reguluje on ekspresję metaloproteinaz (NMPs), enzymów odpowiedzialnych za degradację macierzy zewnątrzkomórkowej. Enzymy te wykazują wzmożoną aktywację w komórkach nowotworowych. RFA mogą brać udział nie tylko w procesie przerzutowania, ale również przyczyniają się do rozwoju nowotworu poprzez obniżenie odpowiedzi immunologicznej oraz indukcję angiogenezy. W wyniku stresu oksydacyjnego czy nitracyjnego w komórkach nowotworowych zwiększa się niestabilność genetyczna, co indukuje kolejne mutacje w genach supresorowych czy onkogenach. Prowadzi to do złośliwienia raka i tworzenia przerzutów.

Wielokrotne badania w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* wskazują na podwyższony poziom różnych biomarkerów stresu oksydacyjnego i nitracyjnego u kobiet z rakiem piersi (MANNELLO i współaut. 2009; OLAS i współaut. 2008, 2010). Zaobserwowano m.in. wzrost oksydacyjnych uszkodzeń DNA (znacznie podwyższony poziom 8-oksyguaniny (8-oksy-dG) w DNA z tkanki nowotworowej w porównaniu ze zdrową tkanką) w nowotworze piersi (COOKE i współaut. 2006, HIMMETOGLU i współaut. 2006). Ponadto, u pacjentek ze złośliwym rakiem piersi obserwuje się zmiany poziomu m.in. grup karbonylowych, tiolowych czy 3-nitrotyrozyny w białkach płytkowych oraz osoczowych, w porównaniu do poziomu tych biomarkerów we frakcjach białkowych osocza czy płytek krwi kobiet zdrowych (KĘDZIERSKA i współaut. 2010b, 2012b). Zaobserwowano również róż-

nice w ich poziomie pomiędzy grupą kobiet ze złośliwą i łagodną formą nowotworu piersi (KĘDZIERSKA i współaut. 2010b). Oprócz modyfikacji białkowych w czasie permanentnego stresu dochodzi też do uszkodzeń lipidów m.in. do ich peroksydacji (PUNNONEN i współaut. 1994, GONENC i współaut. 2006, ERTEN-SENER i współaut. 2007, KASAPOVIĆ i współaut. 2008). Produktami tej wieloetapowej reakcji są np. dialdehyd malonowy (MDA) i 4-hydroksyheksanal (4-HHE), których nagromadzenie w komórce może powodować zmiany w strukturze błony komórkowej, zaburzeń jej płynności oraz integralności komórek (ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009). RAJNEESH i współaut. (2006) oraz KĘDZIERSKA i współaut. (2010a) stwierdzają, że w przypadku nowotworu piersi dochodzi również do wzmożonej peroksydacji lipidów, co określano poprzez reakcję jej produktów z kwasem tiobarbiturowym. Innym markerem tego procesu są izoprostany powstające na skutek utleniania kwasu arachidonowego na drodze nieenzymatycznej. Uważa się, że oznaczanie ich stężenia w moczu w różnych stanach patologicznych, w tym u pacjentek z rakiem piersi jest bardziej specyficzną i wiarygodną metodą określenia poziomu peroksydacji lipidów (MANELLO i współaut. 2007, KĘDZIERSKA i współaut. 2010a). Badania KĘDZIERSKIEJ i współaut. (2010a) wykazały, że w moczu pacjentek z tym nowotworem następuje znaczny wzrost 8-isoPGF_{2α} (8-izoprostoglandyna-F_{2α}) w stosunku do kobiet zdrowych. Podobnych obserwacji dokonał ROSSNER i współaut. (2006), który w swoich doświadczeniach oznaczał poziom innych izoprostanów, z tym, że ich wzrost wiązano z wcześniejszą terapią pacjentek, co mogło wpłynąć na wzmożoną peroksydację lipidów (ROSSNER i współaut. 2006). Inne badania

przeprowadzone nad pacjentkami z rakiem piersi również potwierdzają obserwacje, dotyczące stresu oksydacyjnego jako nieodłącznego elementu tej choroby. Przejawia się to m.in. zmianami w aktywności enzymów antyoksydacyjnych w komórkach nowotworowych. Zaobserwowano zmniejszoną aktywność np. dysmutazy ponadtlenukowej (SOD), a co za tym idzie anionorodnik ponadtlenukowy, który jest prekursorem pozostałych RFT jest usuwany z mniejszą szybkością. Komórki nowotworowe charakteryzują się też wzmożoną produkcją nadtlenuku wodoru, co tłumaczyć może obniżoną aktywnością katalazy (PUNNONEN i współaut. 1994, ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009). Na obniżenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego u pacjentek z rakiem piersi wpływa również obniżenie stężenia nieenzymatycznych antyoksydantów w osoczu, takich jak witamina A, E, C czy glutationu (BADID i współaut. 2010, SHAH i współaut. 2009). Aktywność osoczowych enzymów antyoksydacyjnych np. peroksydazy glutationowej była także niższa u osób chorych na raka piersi niż w grupie kontrolnej (HIMMETOGLU i współaut. 2006). U pacjentek z rakiem piersi zaobserwowano też hiperhomocysteinemię – ważny element rozwoju chorób układu krążenia (GATT i współaut. 2008, OLAS i współaut. 2010). Warto zauważyć, że oksydacyjno-nitracyjne modyfikacje białek płytek krwi obserwowane u kobiet z rakiem piersi mogą powodować zmianę ich struktury i funkcji hemostatycznych, tj. aktywacji. Ponadto, oksydacja i nitrowanie białek osoczowych w tym białek hemostatycznych może modulować ich aktywność hemostatyczną i przyczyniać się do rozwoju schorzeń zakrzepowo-zatorowych (KĘDZIERSKA i współaut. 2012b).

SPOSOBY LECZENIA NOWOTWORÓW A STRES OKSYDACYJNY

Nowotwory są chorobami, w których stosuje się kilka metod terapeutycznych. W zależności od wielu czynników w leczeniu można stosować jedną z metod, albo łączyć kilka, aby zwiększyć możliwość wyleczenia. W doborze odpowiedniego sposobu leczenia należy uwzględnić: miejsce, w którym nowotwór się rozwija, stopień jego zaawansowania klinicznego, stopień złośliwości, ewentualne przerzuty oraz inne czynniki. Współcześnie do najczęściej

stosowanych sposobów leczenia chorób nowotworowych należą: leczenie chirurgiczne, chemioterapia, hormonoterapia, radioterapia i immunoterapia. Rak piersi należy do nowotworów, w których wykonywane jest leczenie skojarzone. Oznacza to bardzo często, że jedna metoda nie jest wystarczająca, dlatego kojarzy się kilka z nich w odpowiedniej kolejności. Terapia kobiet z rakiem piersi uwzględnia metody miejscowe, takie jak chirurgię oraz radio-

terapię oraz metody ogólnoustrojowe czyli chemioterapię, hormonoterapię i metody biologiczne. Chirurgia jest najstarszą i najczęstszą metodą leczenia nowotworów, w tym raka piersi. W zależności od stopnia zaawansowania guza podczas operacji usuwa się całą pierś pacjentki albo tylko guza wraz z sąsiadującymi tkankami. Radioterapia jest też uzupełnieniem leczenia pooperacyjnego, ponieważ napromieniowanie zmniejsza prawdopodobieństwo nawrotu choroby oraz wydłuża czas przeżycia. Rak piersi jest dość specyficzny, ponieważ u większości chorych kobiet pomimo zastosowania radykalnego leczenia dochodzi do pojawienia się przerzutów. Dlatego też chorobę tą zaczęto traktować jako ogólnoustrojową i rozpoczęto stosowanie terapii systemowej, która polega na włączeniu chemio- i hormonoterapii.

Chemioterapia jest sposobem leczenia polegającym na podawaniu leków cytostaticznych, czyli takich, które działają niszcząco na komórki lub pozbawiają je możliwości dzielenia się. Jest to ryzykowna forma terapii ze względu na to, że cytostatyki działają zarówno na komórki nowotworowe, jak i zdrowe, dlatego bardzo często ich stosowanie wiąże się z uszkodzeniem komórek prawidłowych. Ogólny mechanizm działania cytostatyków polega na hamowaniu podziałów komórkowych. Konsekwencją tego jest wprowadzenie komórki na drogę apoptozy. Sugeruje się też, że działanie leków antynowotworowych może polegać m.in. na zwiększeniu stresu oksydacyjnego oraz obniżeniu aktywności enzymów antyoksydacyjnych (ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009). Stwierdzono, że cytotoxiczność jednej z grup leków przeciwnowotworowych, inhibitorów topoizomeraz, do których należą antybiotyki antracyklinowe, polega m.in. na generowaniu wolnych rodników oraz indukowaniu uszkodzeń oksydacyjnych. Inny cytostatyk, dokсорubicyna (z grupy antracyklin), wzmacnia powstawanie nadtlenu wodoru oraz anionorodnika ponadtlenkowego, co stymuluje uszkodzenia w mitochondriach i prowadzi do apoptozy na drodze p53-zależnej. Podobny mechanizm wykazuje trójtlenek arsenu, który wytwarza zwiększone ilości RFT i doprowadza do utraty przepuszczalności zewnętrznej błony w mitochondriach (ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009).

We współczesnej onkologii klinicznej ważną rolę w chemioterapii odgrywają

związki platyny, a wśród nich najpowszechniej stosowana cisplatyna (cis-diamminodichloroplatyna II, cisDDP) (OLAS i WACHOWICZ 1997, DONATI i FALANGA 2001). Tworzy ona określone addukty z DNA komórki. Badania przeprowadzone zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*, wykazały wysoką mutagenność tego leku. Mechanizm działania cisplatyny polega na zahamowaniu cyklu mitotycznego w fazie G₂+M oraz nieodwracalnym przyłączeniu białek niehistonowych do DNA. Właściwości przeciwnowotworowe tego związku polegają na możliwości tworzenia wiązań wewnątrznicowych między dwiema resztami guaniny (OLAS i WACHOWICZ 1997). Jednak ze względu na wiele działań ubocznych, takich jak: neurotoksyczność, niedokrwistość, leukopenia, cisDDP jest stosowana w terapii nowotworów z ograniczeniami (OLAS i WACHOWICZ 1997). Wykazano również wpływ tego leku na zjawisko stresu oksydacyjnego. W płytkach krwi pod wpływem działania cisDDP zwiększa się poziom anionorodnika ponadtlenkowego oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych zostaje w tym czasie zahamowana (OLAS i WACHOWICZ 1997). Chemioterapii z zastosowaniem cisDDP towarzyszy też małopłytkowość, co przyczynia się do częstych krwotoków. Sugeruje się, że lek ten hamuje proces aktywacji płytek krwi (OLAS i WACHOWICZ 1997). Badania *in vivo* potwierdzają także dodatkową właściwość cisplatyny, jaką jest aktywacja makrofagów, które generują duże ilości tlenu azotu i w ten sposób hamują aktywację płytek krwi, prowadząc tym samym do zaburzeń hemostazy (OLAS i WACHOWICZ 1997, DONATI i FALANGA 2001).

Nie tylko cytostatyki są przyczyną wzmożonego stresu oksydacyjnego w terapii przeciwnowotworowej. Radioterapia także jest źródłem wolnych rodników. Promieniowanie jonizujące jest czynnikiem wywołującym nadmierną produkcję RFT/RFA w komórkach nowotworowych, co skutkuje nieodwracalnymi zmianami w strukturach komórkowych oraz wyczerpaniem mechanizmów obronnych. Jednak niepożądanym skutkiem radioterapii stosowanej w walce z rakiem jest działanie na komórki zdrowe, które otaczają guz, co powoduje, że w nich także dochodzi do nadmiernego gromadzenia się RFT/RFA (ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009).

ROLA ANTYOKSYDANTÓW W PROFILAKTYCE I LECZENIU RAKA PIERSI

Tematem wielu badań poświęconych leczeniu nowotworów jest stosowanie antyoksydantów w trakcie chemioterapii czy radioterapii, których zadaniem jest zwiększenie skuteczności działania cytostatyków poprzez obniżenie poziomu różnych biomarkerów stresu oksydacyjnego. Dlatego też zalecana jest dieta bogata w antyoksydanty m.in. u kobiet chorych na raka piersi, u których występuje obniżony poziom witaminy A, E czy związków selenu (SZOSZKIEWICZ i ZAŁUSKI 2003, GREENLEE i współaut. 2007, ADAMOWICZ i współaut. 2008, ŚCIBOR-BENTKOWSKA i CZECZOT 2009). Doniesienia naukowe wskazują, że selen jest pierwiastkiem mającym swój udział w terapii antynowotworowej, który może chronić przed szkodliwym działaniem różnych cytostatyków, w tym cisplatyny (OLAS i WACHOWICZ 1997). Uwagę na selen zwrócono ze względu na peroksydazę glutationową, która jest enzymem selenobiałkowym, mającym za zadanie ochronę organizmu przed szkodliwym działaniem wolnych rodników (OLAS i WACHOWICZ 1997). Ponadto badania w warunkach *in vivo* potwierdzają, że dieta bogata w selen zmniejsza częstość zachorowań na nowotwory. Mechanizm działania związków selenowych polega na działaniu na DNA komórek nowotworowych, stymulowaniu układu odpornościowego oraz zmianie stanu redoks w komórce. Funkcja antynowotworowa spełniana jest także poprzez hamowanie podziałów komórkowych przez blokowanie translacji. Wykazano również, że do terapii cisplatyną powinno się włączać organiczne związki selenu, np. eb-selen, co zmniejsza jej nefro- i neurotoksyczność, nie wpływając na działanie antynowotworowe (OLAS i WACHOWICZ 1997). Oprócz tego, związki selenu mogą „konkurować” z cisDDP o grupy tiolowe białek, a z glutationem tworzyć kompleks – selenoglutation. Jest wówczas mniejsze prawdopodobieństwo powstania kompleksu cisplatyny z glutationem, który to kompleks jest bardziej toksyczny niż sama cisDDP (OLAS i WACHOWICZ 1997).

Zainteresowanie w ostatnich latach w profilaktyce nowotworów, np. raka piersi, i terapii antynowotworowej wzbudzają też związki polifenolowe – roślinne metabolity wtórne. Dotychczas zidentyfikowano ponad 8 tysięcy związków polifenolowych, a ich dzienne zalecane spożycie szacuje się na poziomie 0,5–1 g. Obecność polifenoli stwier-

dzono m. in. w warzywach, owocach, a także w kawie, herbacie czy kakao. Korzystne działanie związków polifenolowych w mechanizmie obronnym organizmu przeciwko m.in. nowotworom przypisuje się głównie ich właściwościom przeciwutleniającym. Zaobserwowano np., że dieta bogata w izoflawony (jedną z grup związków polifenolowych) zmniejsza ryzyko wystąpienia raka piersi (MALIŃSKA i KIERSZTAN 2004, SHARHAR i współaut. 2008). Badania na modelach zwierzęcych potwierdzają hamujący wpływ tych związków na powstawanie nowotworów, rozrost guza oraz przerzutowanie. Mechanizm ich działania poznano na podstawie badań na liniach komórkowych, w których stwierdzono, że hamują one proliferację komórek nowotworowych oraz mogą indukować ich apoptozę. Oprócz tego, związki polifenolowe okazują się być dobrą linią obrony przed stresem oksydacyjnym towarzyszącym chorobom nowotworowym. Wynika to z obecności w ich strukturze grup hydroksylowych, które reagują z wolnymi rodnikami, dając jako produkt rodnik mniej szkodliwy, a bardziej stabilny (MALIŃSKA i KIERSZTAN 2004). Związki polifenolowe neutralizują też procesy sprzyjające powstawaniu reaktywnych form tlenu i azotu poprzez hamowanie aktywności odpowiednich enzymów (MALIŃSKA i KIERSZTAN 2004). Badania OLAS i współaut. (2008) oraz KĘDZIERSKIEJ i współaut. (2009, 2010b) wykazują, że antyoksydacyjną funkcję u pacjentek z rakiem piersi może spełniać ekstrakt z owoców aronii (*Aronia melanocarpa*) bogaty w związki polifenolowe. Ekstrakt ten redukuje uszkodzenia oksydacyjne i nitracyjne oraz zmniejsza poziom anionorodnika ponadtlenkowego w płytkach krwi zarówno u kobiet zdrowych, jak i chorych na nowotwór piersi. Zaobserwowano również zwiększenie zawartości niskocząsteczkowych tioli, w tym glutationu w osoczu pacjentek z rakiem piersi w obecności ekstraktu z owoców aronii (OLAS i współaut. 2010, KĘDZIERSKA i współaut. 2012a). Należy także wspomnieć o chemoprewencyjnym (antykanцерогенным), jak i przeciwnowotworowym (cytostatycznym, proapoptotycznym) działaniu kurkuminy (polifenolu znajdującego się w różnych składnikach diety) w przypadku guzów piersi (KUTTAN i współaut. 2007, SURH i CHUN 2007, WOLANIN i PIWOCKA 2008, SIKORA-POLACZEK i współaut. 2011).

Dlatego też naukowcy sugerują, że dieta bogata w związki polifenolowe czy inne związki o aktywności antyoksydacyjnej może przyczyniać się do ograniczenia uszkodzeń oraz modyfikacji wywołanych stanem stresu

oksydacyjnego. Ponadto dzięki dostarczaniu organizmowi egzogennych przeciwutleniaczy można zmniejszać ryzyko wystąpienia wielu chorób, w tym raka piersi (MALIŃSKA i KIERSZTAŃ 2004, TAS i HANSEL 2005).

STRES OKSYDACYJNY W RAKU PIERSI

STRESZCZENIE

Stres oksydacyjny definiowany jest jako zachwianie równowagi pomiędzy powstawaniem (nadprodukcją) wolnych rodników, a zdolnościami indywidualnych mechanizmów obronnych. Produkcja wolnych rodników jest stałym elementem metabolizmu tlenowego komórki. Jest powszechnie wiadomo, że stres oksydacyjny wywołuje wiele stanów patologicznych i chorób. Stres oksydacyjny jest przyczyną uszkodzeń wielu ważnych makromolekuł, do których zaliczamy: DNA, białka i lipidy. Wzrost poziomu wolnych rodników wpływa też na transformację nowotworową komórki. Procesowi formowania i rozwojowi nowotworu towarzyszy zachwianie równowagi redox w komórce, nadprodukcja reaktywnych form tlenu i azotu. Obecnie rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet w Polsce i na świecie. Biologia tego nowotworu i jego kliniczny obraz jest bardzo heterogeny. Stres oksydacyjny i zmia-

ny oksydacyjno-nitacyjny są często obserwowane u chorych z rakiem piersi, ale nadal mechanizmy relacji między stresem oksydacyjnym czy nitacyjnym a rakiem piersi są niejasne. Stres oksydacyjny i nitacyjny obserwowany u pacjentów chorych na raka piersi może również indukować zmiany strukturalne i zmiany funkcji różnych elementów układu hemostazy. Organizm człowieka wyposażony jest w kilka sposobów ochrony przed atakiem oksydacyjnym. Mechanizmy obrony obejmują różne enzymy antyoksydacyjne, do których zaliczamy: peroksydazę glutationową, katalazę, dysmutazę ponadtlenkową i inne substancje, takie jak niskocząsteczkowe tiole: glutation, cysteinę, witaminę E, C i A, które eliminują wolne rodniki. Jest to bardzo istotne szczególnie dla chorych z rakiem piersi podczas chemioterapii wielolekowej, czy przed- lub pooperacyjnej radioterapii.

OXIDATIVE STRESS IN BREAST CANCER

Summary

Oxidative stress may be defined as an imbalance between reactive oxygen species and the individual antioxidant defense system. Reactive oxygen species formation is a constant element of a cell's oxygen metabolism. It is now known that oxidative stress is involved in most of pathological states and diseases. Oxidative stress causes damage to important macromolecules, such as DNA, proteins, and lipids. Growing evidence indicates the participation of free radicals in the cancerous transformation of cells. The process of cancer formation and development is associated with loss of redox balance in the cell and with overproduction of reactive oxygen and nitrogen species. Actually breast cancer is the most common malignant neoplasm in women both in Poland and worldwide. It is biologically and clinically very heterogeneous disease. Oxidative stress and

oxidative-nitrative changes in the cells are frequently observed in breast cancer patients, but until now mechanisms involved in the relationship between oxidative stress and breast cancer are still unclear. Oxidative stress species may also induce changes to the structure and function in hemostatic elements. Human organisms have developed several ways to protect themselves from oxidant attacks. The defense mechanisms include a variety of antioxidant enzymes like glutathione peroxidase, catalase and superoxide dismutase and other substances such as low-molecular-weight thiols, such as glutathione, cysteine and vitamins E, C and A, which provide to eliminate free radicals are very important for the development of breast cancer and during multichemotherapy with different anti-cancer drugs or pre- and postoperative radiation therapy.

LITERATURA

- ADAMOWICZ K., MARCZEWSKA M., JASSEM J., 2008. *Kojarzenie radioterapii i chemioterapii u chorych na raka piersi*. Onkologia Prakt. Klin. 4, 127-134.
- BADID N., BABA A. F. Z., MERZOUK H., BELBRAOUE S., MOKHARTI N., MERZOUK S. A., BENHABIB R., HAMAZAOU D., 2010. *Oxidant/Antioxidant status, lipids and hormonal profile in overweight women with breast cancer*. Pathol. Oncol. Res. 16, 159-167.
- CHANDRAMATHI S., SURESH K., ANITA Z. B., KUPPUSAMY U. R., 2009. *Comparative assessment of urinary oxidative indices in breast and colorectal cancer patients*. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 135, 319-323.
- COOKE M. S., OLINSKI R., EVANS M. D., 2006. *Does measurement of oxidative damage to DNA have*

- clinical significance?* Clin. Chim. Acta 365, 30–49.
- DELIMARIS I., FAVIOU E., ANTONAKOS G., STATHOULOU E., ZACHARI A., DIOYSSIOU-ASERIOU A., 2007. *Oxidized LDL, serum oxidizability and serum lipid levels in patients with breast and ovarian cancer.* Clin. Biochem. 40, 1129–1134.
- DONATI M. B., FALANGA A., 2001. *Pathogenetic mechanisms of thrombosis in malignancy.* Acta Haematol. 106, 18–24.
- ERTEN-SENER D., GOENENC A., AKINCI M., AKINCI M., TORUN M., 2007. *Lipid peroxidation and total antioxidant status in patients with breast cancer.* Cell Biochem. Funct. 25, 377–382.
- GATT A., MAKRIAS A., CLADD H., BURCOMBE R. J., SMITH J. M., COOPER P., THOMSON D., MAKRIAS M., 2008. *Hyperhomocysteinemia in women with advanced breast cancer.* Int. J. Lab. Hematol. 29, 421–425.
- GONENC A., ERTEN D., ASLAN S., AKINCI M., SIMSEK B., TORUN M., 2006. *Lipid peroxidation and antioxidant status in blood and tissue of malignant breast tumor and benign breast disease.* Cell. Biol. Int. 30, 376–380.
- GREENLEE H., HERSHMAN D. L., JACOBSON J. S., 2007. *Use of antioxidant supplements during breast cancer treatment: a comprehensive review.* Breast Cancer Res. Treat. 115, 437–452.
- HAMO-MAHMOOD I., ABDULLAH K. S., ABDULLAH M. S., 2009. *Total antioxidant status in women with breast cancer.* Pak. J. Med. Sci. 4, 609–612.
- HIMMETOGLU S., DINCER Y., ERSOY Y. E., BAYRAKTAR B., CELIK V., AKCAY T., 2009. *DNA oxidation and antioxidant status in breast cancer.* J. Invest. Med. 57, 720–723.
- KASAPOVIĆ J., PEJIĆ S., TODOROVIĆ A., STOJILJKOVIC V., PAJOVIC S. B., 2008. *Antioxidant status and lipid peroxidation on the blood of breast cancer patients in different ages.* Cell Biochem. Funct. 26, 723–730.
- KĘDZIERSKA M., OLAS B., WACHOWICZ B., STOCHMAL A., OLESZEK W., JEZIORSKI A., PIEKARSKI J., GŁOWACKI R., 2009. *An extract from berries of Aronia melanocarpa modulates the generation of superoxide anion radicals in blood platelets from breast cancer.* Planta Med. 75, 1405–1409.
- KĘDZIERSKA M., OLAS B., WACHOWICZ B., JEZIORSKI A., PIEKARSKI J., 2010a. *The lipid peroxidation in breast cancer patients.* Gen. Physiol. Biophys. 29, 208–210.
- KĘDZIERSKA M., OLAS B., WACHOWICZ B., STOCHMAL A., OLESZEK W., JEZIORSKI A., PIEKARSKI J., 2010b. *The nitrative and oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients; the protective action of Aronia melanocarpa extract.* Platelets 21, 541–548.
- KĘDZIERSKA M., OLAS B., WACHOWICZ B., GŁOWACKI R., BALD E., CZERNEK U., SZYDŁOWSKA-PAZERA K., POTEMSKI P., PIEKARSKI J., JEZIORSKI A., 2012a. *Effects of the commercial extract of aronia on oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients after the surgery and various phases of the chemotherapy.* Fitoterapia 83, 310–317.
- KĘDZIERSKA M., OLAS B., WACHOWICZ B., JEZIORSKI A., PIEKARSKI J., 2012b. *Relationship between thiol, tyrosine nitration and carbonyl formation as biomarkers of oxidative stress and changes of hemostatic function of plasma isolated from breast cancer patients before surgery.* Clin. Biochem. 45, 231–236.
- KULBACKA J., SACZKO J., CHWIŁKOWSKA A., 2009. *Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórki.* Polski Merkuriusz Lekarski 157, 44–47.
- KUTTAN G., KUMAR K. B., GURUVAYOORAPPAN C., KUTAN R., 2007. *Antitumor, anti-invasion, and antimetastatic effects of curcumin.* Adv. Exp. Med. Biol. 595, 173–184.
- LAHIRI M., MARTIN J. H. J., 2009. *Nitric oxide decreases motility and increases adhesion in human breast cancer.* Oncol. Rep. 21, 275–281.
- LIN JOANN J., MANSON E., SELHUB J., BURING J. E., ZHANG S. M., 2007. *Plasma cysteinoglycine levels and breast cancer risk in women.* Cancer Res. 67, 1123–1127.
- MALIŃSKA D., KIERSZTA A., 2004. *Flawonoidy- charakterystyka i znaczenie w terapii.* Postępy Biochem. 50, 182–195.
- MANELLO F., TONTI G. A. M., PAGLIARANI S., BENEDETTI S., CANESTRARI F., ZHU W., QIN W., SAUTER E., 2007. *The 8- epimer of prostaglandin F₂, a marker of lipid peroxidation and oxidative stress is decreased in the nipple aspirate fluid of women with breast cancer.* Int. J. Cancer 120, 1971–1976.
- MANNELLO F., TONTI G. A., MEDDA V., 2009. *Protein oxidation in breast microenvironment: nipple aspirate fluid collected from breast cancer women contains increased protein carbonyl concentration.* Cell. Oncol. 31, 383–392.
- NOWAK P., OLAS B., WACHOWICZ B., 2010. *Stres oksydacyjny w przebiegu hemostazy.* Postępy Biochem. 3, 239–247.
- OLAS B., WACHOWICZ B., 1997. *Selen a cytotoksyczność cis- diamminodichloroplatyny.* Postępy Hig. Med. Dośw. 51, 95–108.
- OLAS B., WACHOWICZ B., 2007. *Role of reactive nitrogen species in blood platelet functions.* Platelets 18, 555–565.
- OLAS B., WACHOWICZ B., NOWAK P., KĘDZIERSKA M., TOMCZAK A., STOCHMAL A., OLESZEK W., JEZIORSKI A., PIEKARSKI J., 2008. *Studies on antioxidant properties of polyphenol-rich extract from berries of Aronia melanocarpa on blood platelets.* J. Physiol. Pharmacol. 59, 823–835.
- OLAS B., KĘDZIERSKA M., WACHOWICZ B., STOCHMAL A., OLESZEK W., JEZIORSKI J., PIEKARSKI J., GŁOWACKI R., 2010. *Effect of aronia on thiol in plasma of breast cancer patients.* Eur. J. Cell. Biol. 5, 38–48.
- PUNNONEN K., AHOTUPA M., ASAISHI K., HYOTY M., KUDO R., PUNNONE R., 1994. *Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in human breast cancer.* J. Cancer Res. Oncol. 120, 374–377.
- RAJNEESH C. P., MANIMORAN A., SASIKALA K. R., ADAIKAPPAN P., 2006. *Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer.* Singapore Med. J. 49, 640–643.
- RAY G., HUSAIN S. A., 2001. *Role of lipids, lipoproteins and vitamins in women with breast cancer.* Clin. Biochem. 34, 71–76.
- ROBERTS R. A., LASKIN D. L., SMITH C. V., ROBERTSON F. M., ALLEN E. M. G., DOOM J. A., SLIKKER W., 2009. *Nitrative and oxidative stress in toxicology and diseases.* Toxicol. Sci. 112, 4–16.
- ROSSNER P., GAMMON M. D., TERRY M. B., AGRAWAL M., ZHANG F. F., TEITELBAUM S. L., ENG S. M., GAUDET M. M., NEUGUT A. I., SANTELLA R., 2006. *Relationship between urinary 15-F_{2t}-isoprostane and 8-oxodeoxyguanosine levels and breast cancer risk.* Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 15, 639–644.
- ŚCIBOR-BENTKOWSKA D., CZECZOT H., 2009. *Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny.* Postępy Hig. Med. Dośw. 63, 58–72.
- SHAH F. D., PATEL J. B., SHUKLA S. N., SHAH P. M., PATEL P. S., 2009. *Evaluation of plasma non- enzymatic antioxidants in breast cancer etiology.* Asian Pac. J. Cancer Prev. 10, 91–96.
- SHARHAR S., NORMAH H., FATIMAH A., FADILAH R. N., ROHI G. A., AMIN I., CHAM B. G., RIZAL R. M., FAIRULNIZAL M. N., 2008. *Antioxidant intake and*

- status, and oxidative stress in relation to breast cancer risk: a case- control study.* Asian Pac. J. Cancer Prev. 9, 343-350.
- SIKORA-POLACZEK M., BIELAK-ŻMIJEWSKA A., SIKORA E., 2011. *Molekularne i komórkowe mechanizmy działania kurkuminy – dobroczynny wpływ na organizm.* Postępy Biochem. 57, 74-84.
- SURH Y. J., CHUN K. S., 2007. *Cancer chemopreventive effects of curcumin.* Exp. Med. Biol. 595, 149-172.
- SZOSZKIEWICZ R., ZAŁUSKI J., 2003. *Analiza skuteczności chemioterapii neoadjuwantowej zawierającej docetaxel w skojarzeniu z doksorubicyną u chorych z miejscowo zaawansowanym rakiem piersi.* Współcz. Onkol. 7, 434-440.
- TAS F., HANSEL H., 2005. *Oxidative stress in breast cancer.* Med. Oncol. 22, 11-15.
- WOLANIN K., PIWOCKA K., 2008. *Kurkumina – od medycyny naturalnej do kliniki.* Kosmos 57, 53-65.
- ZAREMBA T., OLIŃSKI R., 2010. *Oksydacyjne uszkodzenia DNA – ich analiza oraz znaczenie kliniczne.* Postępy Biochem. 2, 124-138.