

УДК 618.14-002-006-036

А. И. Пашов

Красноярская государственная медицинская академия
ул. Партизана Железняка, 1, Красноярск, 660022, Россия
E-mail: pachov@mail.ru

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ РЕАКЦИЙ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОБМЕНА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЭНДОМЕТРИЯ

Показана возможность оценки метаболических особенностей опухолевой ткани эндометрия по активности внутриклеточных ферментных показателей периферической крови, что позволит использовать наименее инвазивный способ для ранней диагностики рака эндометрия.

Ключевые слова: аденокарцинома эндометрия, внутриклеточные ферменты.

В последнее время отмечается отчетливая тенденция к увеличению частоты гормонозависимых опухолей, в частности рака эндометрия (РЭ). Несмотря на относительно благоприятное клиническое течение РЭ и удовлетворительный прогноз, возникающие проблемы в диагностике и лечении этой онкогинекологической патологии потребовали новых решений [1].

Функциональное состояние любой клетки организма в значительной степени зависит от внутриклеточных метаболических процессов, информативным отражением интенсивности и направленности которых являются показатели активности ферментов. Среди них в наибольшей степени отражают особенности метаболизма клеток дегидрогеназы, катализирующие важнейшие внутриклеточные реакции [2]. До настоящего времени наиболее активно изучались указанные ферменты в лимфоцитах, и результатами исследований удалось доказать способность энзиматических параметров отражать функциональные возможности этих клеток при различных патологических процессах [3; 4]. В последние годы опубликованы результаты изучения метаболических процессов в некоторых тканях. Например, исследовалась ткань поджелудочной железы в эксперименте и у больных с разными формами панкреатита [5], внутриклеточный обмен адипоцитов [6], ткань печени при вирусных гепатитах [7]. Результатов же изучения процессов внутриклеточного обмена в тканях опухолей эндомет-

рия в доступной литературе нами не обнаружено.

Известно, что ферментативные показатели периферической крови способны отражать не только влияния на метаболизм регуляторных систем организма, но и изменения обменных реакций в очаге патологического процесса [8]. Поэтому для диагностики и оценки степени тяжести патологических состояний, а также для контроля эффективности лечения, прогноза течения заболеваний используются и показатели активности ферментов в форменных элементах крови, в ее плазме и сыворотке [3; 9; 10]. Представляет несомненный интерес выяснение возможности оценки характера изменений метаболических процессов в опухолевой ткани эндометрия по указанным параметрам периферической крови больных. Такой подход позволил бы использовать при обследовании больных наименее инвазивный метод, разрешающий получить информацию об особенностях обменных процессов в опухолях без проведения гистероскопии или кюретажа, имеющих ряд противопоказаний и ограничений [11].

Цель исследования: оценить метаболические особенности опухолевой ткани эндометрия по ферментным показателям периферической крови.

Материал и методы

Обследованы 53 больных с аденокарциномой эндометрия I-й стадии, которые

включены в следующие группы (первый и второй патогенетические варианты заболевания [1]) в зависимости от ретроспективной оценки опухолей: 1-я группа – с гистологически верифицированной высоко- и /или умереннодифференцированной аденокарциномой эндометрия (36 человек, средний возраст $59,89 \pm 1,02$ года); 2-я группа – 17 женщин ($60,35 \pm 1,62$ года) с низкодифференцированными опухолями. Контрольную группу составили 16 практически здоровых женщин (средний возраст $59,70 \pm 0,86$ года). Все обследованные находились в постменопаузе длительностью от 5 до 10 лет.

Из ткани эндометрия, получаемой при гистероскопии для морфологического исследования, которая макроскопически не была изменена (в контрольной группе), или в опухолевой ткани (в 1-й и 2-й клинических группах), производилось выделение фрагмента массой 3–5 мг. Ткань, с фиксированной на аналитических весах массой, разрушали в гомогенизаторе, а затем добавляли дистиллированную воду и производили двукратное замораживание-размораживание. Полученную суспензию центрифугировали 10 минут при 3 000 об/мин, используя в дальнейшем для исследований активности ферментов только надосадочную жидкость.

Периферическую кровь из пальца обследованных больных (20 мкл) замораживали, затем добавляли к ней 3 мл дистиллированной воды, вновь замораживали, размораживали и центрифугировали 10 минут при 3 000 об/мин. Надосадочная жидкость использовалась для определения активности внутриклеточных ферментов.

Биолюминесцентным методом с бактериальной люциферазой [12] в супернатантах ткани и крови определялись показатели активности внутриклеточных ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАДМДГ, НАДФМДГ), НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ, НАДФГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Активность ферментов выражалась в фермента-

тивных единицах ($1 \text{ E} = 1 \text{ мкмоль/мин}$) на 10 000 клеток [12].

Достоверность различий полученных результатов оценивалась по t-критерию Стьюдента (для рядов с нормальным распределением) и дополнительно непараметрическими методами по критерию Вилксона и Ван дер Вардена (для рядов с распределением, отличным от нормального).

Результаты исследования и обсуждение

При анализе показателей установлено, что особенности изменений интенсивности и направленности обменных реакций в карциномах эндометрия во многом совпадают между собой вне зависимости от гистологической характеристики опухолей, но в ткани низкодифференцированных опухолей они выражены в большей степени, чем в высоко- и умереннодифференцированных опухолях и отличаются от соответствующих показателей группы контроля (табл. 1).

Характерными метаболическими особенностями опухолевой ткани эндометрия являются следующие. Во-первых, высокий метаболический потенциал пролиферативных процессов, что подтверждается активацией Г6ФДГ и других НАДФ-зависимых ферментов, обеспечивающих наработку НАДФН, необходимого для реакций синтеза. Для низкодифференцированных опухолей характерен более высокий пролиферативный потенциал, чем для опухолей, характерных для первого патогенетического варианта заболевания.

Во-вторых, уменьшение количества субстратов на начальных этапах цикла Кребса. Это обусловлено как снижением их потока, поступающего с гликолиза через АцКоА (подтверждается низкими показателями ферментов НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), так и уменьшением объема субстратного пула на этапе малат-оксалоацетат (НАДМДГ). Наряду с этим нарастает интенсивность реакции малат-пироват, о чем свидетельствуют изменения показателя активности НАДФМДГ. Указанные перераспределения субстратных потоков приобретают большую выраженность при снижении дифференцировки опухолевой ткани.

Таблица 1. Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/10⁴ клеток) в опухолевой ткани эндометрия разной степени дифференцировки (M ± m)

Ферменты	Контроль (n = 16)	1-я группа (n = 36)	2-я группа (n = 17)
Г6ФДГ	2,70 ± 0,35	4,18 ± 0,31*	9,05 ± 0,51***
Г3ФДГ	26,50 ± 2,16	29,83 ± 1,69	69,35 ± 3,76***
ЛДГ	17,48 ± 1,63	23,17 ± 1,38*	12,98 ± 0,81**
НАДИЦДГ	133,60 ± 15,47	84,45 ± 4,50*	38,38 ± 2,18***
НАДФИЦДГ	61,10 ± 6,11	42,53 ± 2,15**	20,46 ± 1,39***
НАДГДГ	21,66 ± 2,01	32,95 ± 1,69***	66,72 ± 4,11***
НАДФГДГ	4,01 ± 0,37	6,51 ± 0,39***	15,39 ± 0,96***
НАДМДГ	216,94 ± 15,90	149,13 ± 11,50*	34,18 ± 1,93***
НАДФМДГ	4,47 ± 0,33	7,14 ± 0,48***	22,12 ± 1,79***
ГР	51,81 ± 5,21	72,91 ± 3,38***	104,77 ± 4,73***

Примечание: p – достоверность различий с контролем: * – p < 0,01, ** – p < 0,05, *** – p < 0,001.

Таблица 2. Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/мкл) в периферической крови у больных с раком эндометрия разной степени дифференцировки (M ± m)

Ферменты	Контроль (n = 16)	1-я группа (n = 36)	2-я группа (n = 17)
Г6ФДГ	1,83 ± 0,16	2,29 ± 0,17**	4,78 ± 0,43***
Г3ФДГ	110,43 ± 12,71	92,73 ± 7,39	189,86 ± 17,98*
ЛДГ	11,40 ± 0,61	21,83 ± 2,17***	14,88 ± 1,38
НАДИЦДГ	24,79 ± 3,20	8,41 ± 0,66***	3,10 ± 0,22***
НАДФИЦДГ	16,36 ± 1,86	3,48 ± 0,27***	2,05 ± 0,17***
НАДГДГ	5,81 ± 0,83	7,83 ± 0,68	14,77 ± 1,45*
НАДФГДГ	7,86 ± 1,08	14,65 ± 1,35***	25,64 ± 1,52***
НАДМДГ	238,95 ± 33,51	159,74 ± 17,84**	36,72 ± 2,81***
НАДФМДГ	3,36 ± 0,39	4,89 ± 0,39*	18,09 ± 1,10***
ГР	2,49 ± 0,31	2,72 ± 0,23	3,32 ± 0,24**

Примечание: p – достоверность различий с контролем: * – p < 0,01, ** – p < 0,05, *** – p < 0,001.

В качестве третьей, но одной из самых важных особенностей метаболизма опухолевых клеток следует указать повышенную активность ферментов НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ, которые катализируют реакции дополнительного поступления метаболитов аминокислотного обмена на цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). Наиболее выражено это в низкодифференцированных опухолях: в них регистрируется весьма значительное – в 3–4 раза – повышение потребления аминокислот в ЦТК.

Четвертой особенностью внутриклеточного обмена ткани аденокарциномы эндометрия, связанной со степенью дифференцировки, можно считать разнонаправленные изменения интенсивности реакций, функционально ассоциированных с гликолизом, которые контролируются Г3ФДГ и ЛДГ.

Изучение показателей активности НАД- и НАДФ-зависимых ферментов в периферической крови позволило установить, что изменения большинства этих показателей подчиняется тем же закономерностям, уста-

новленным для тканей опухолей, и зависят от степени их дифференцировки. При этом выраженность некоторых из изменений показателей крови даже более значительна, чем в опухолевой ткани эндометрия (табл. 2).

Так, показатели в крови больных 1-й группы активности ферментов Г6ФДГ, ЛДГ, НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДФМДГ, как и в тканях опухолей, превышают контрольные значения в 1,5–2 раза, а показатель НАДМДГ в 1,5 раза ниже, чем в контроле. Активность же НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, которые в тканях высоко- и умереннодифференцированных опухолей определяются только на 30–50 % ниже контрольного уровня, в периферической крови больных в 3–5 раз ниже, чем у практически здоровых женщин. Для двух ферментов (Г3ФДГ и ГР) не отмечено достоверных изменений по сравнению с контрольным уровнем.

Изменения показателей крови больных с низкодифференцированными аденокарциномами эндометрия подобны тем, которые установлены для опухолевой ткани. Как

и в ткани эндометрия, в крови больных определяются более высокими, чем в контрольной группе, показатели Г6ФДГ, Г3ФДГ, НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДФМДГ и ГР. Подобным же образом, как и в тканях опухолей, ниже, чем в контроле, активность ферментов НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и НАДМДГ. Для многих из перечисленных показателей изменения не только сохраняют направленность по сравнению с уровнем контрольной группы, но и степень их выраженности пропорциональна тем, которые отмечались для опухолевой ткани.

Для подтверждения того, что показатели периферической крови больных адекватно отражают метаболические изменения в опухолевой ткани эндометрия, использован метод корреляционного анализа, которым обработаны индивидуальные показатели активности ферментов в тканях опухолей больных и в их периферической крови (в совокупности 1-й и 2-й групп). Для подавляющего большинства ферментных показателей установлено наличие высокого уровня достоверности (не менее 99 %) корреляций между их уровнем, определяемым в тканях опухолей и в периферической крови: Г6ФДГ – $r = 0,44$; Г3ФДГ – $r = 0,61$; НАДИЦДГ – $r = 0,56$; НАДФИЦДГ – $r = 0,37$; НАДГДГ – $r = 0,47$; НАДФГДГ – $r = 0,54$; НАДМДГ – $r = 0,53$; НАДФМДГ – $r = 0,78$ при критическом значении коэффициента корреляции для $p < 0,01$, равном 0,35. При этом указанные связи имели только положительные значения, что еще раз подтверждает отсутствие случайно выявляющихся зависимостей между анализируемыми показателями.

Заключение

При РЭ показатели активности большинства внутриклеточных ферментов крови больных изменяются по сравнению с их контрольными значениями в основном по тем же закономерностям, что и в эндометрии, отражая характер метаболических изменений опухолевой ткани. Различия же в степени проявлений перестроек метаболизма, установленные по периферической крови и ткани эндометрия, вероятно, связаны с определенной степенью «автономности» развития опухоли, которая подразумевает в числе прочих механизмов обеспече-

ния ее жизнедеятельности и избирательную стимуляцию или ингибирование некоторых реакций обмена.

Список литературы

1. Бохман Я. В. Руководство по онкогигиенекологии. СПб., 2002.
2. Бышевский А. Ш., Терсенов О. А. Биохимия для врача. Екатеринбург, 1994.
3. Булыгин В. Г. Зависимость показателей активности ферментов в периферической крови детей г. Красноярска от уровня их здоровья // Тез. докл. итоговой науч. конф. НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН. Красноярск, 1999. С. 74–75.
4. Булыгин Г. В. и др. Метаболические основы регуляции иммунного ответа / Г. В. Булыгин, Н. И. Камзалакова, А. В. Андрейчиков. Новосибирск, 1999.
5. Назаров И. П. и др. Иммунопатология в хирургии и анестезиологии / И. П. Назаров, Ю. С. Винник, С. С. Дунаевская. Красноярск, 2003.
6. Андрейчиков А. В. Подвижная почка или метаболический паттерн «отмеченных» нефроптозом. Новосибирск, 2002.
7. Ферменты крови и ткани печени детей, больных хроническим вирусным гепатитом В / В. Г. Булыгин, Н. А. Аксенова, Г. В. Булыгин и др. // Этноэкологические особенности ассоциации инфекционных факторов и патологии органов пищеварения у взрослого и детского населения: Лекции, обзоры и тез. докл. Всерос. конф. Красноярск, 2001. С. 249–250.
8. Колб В. Г., Зубовская Е. Т. Интерпретация некоторых энзимологических показателей при заболеваниях внутренних органов // Здравоохранение Белоруссии. 1986. № 9. С. 62–66.
9. Громашевская Л. Л., Касаткина М. Г. Различия ферментативной активности сыворотки крови у здоровых людей в зависимости от возраста и пола (обзор литературы) // Лаб. дело. 1990. № 5. С. 4–9.
10. Солодовникова Ф. Н., Дмитриев В. В. Состояние углеводно-энергетического метаболизма в динамике ДВС-синдрома у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями // Педиатрия. 1991. № 6. С. 10–14.
11. Стрижаков А. Н., Давыдов А. И. Гистерорезектоскопия. М., 1997.

12. Савченко А. А., Сунцова Л. Н. Высококочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека билюминесцентным методом // Лаб. дело. 1989. № 11. С. 23–25.
Материал поступил в редколлегию 27.04.2006

A. I. Pashov

Metabolic reactions inter cellar exchange of peripheral blood and tumor tissue endometry

The paper presents the way to esteem metabolic peculiarities of tumor tissue endometrial through the activity of inside cellar enzyme data peripheries blood that affords to use less aggressive way for early diagnosis of tumor endometrial.

Keywords: endometrial carcinoma, inside cellar enzyme.