

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров Ю.К., Мозутов М.С., Крыкова Н.А., Сихарулидзе Э.Н. Малоинвазивные хирургические вмешательства при «холодных» узлах щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Челябинск, 2000. — С.22-27.
2. Барсуков А.Н. Мифы склерозирующей терапии доброкачественных узловых образований щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Ярославль, 2004. — С.32-33.
3. Бубнов А.Н., Кузьмичев А.С., Клименков А.П. Этаноловая деструкция тиреоидных узлов // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Смоленск, 2002. — С.80-82.
4. Ветшев П.С., Чилингарики К.Е., Черепенин М.Ю. Миниинвазивные технологии и лечение доброкачественных образований щитовидной железы // Хирургия. — 2002. — №7. — С.61-63.
5. Ильин А.А., Желонкина Н.В., Румянцев П.О. и др. Применение методики склеротерапии с использованием 96% этилового спирта при лечении узлового зоба у детей и подростков // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Ярославль, 2004. — С.116-118.
6. Ким И.В., Кузнецов Н.С., Ванушко В.Э. Место склеротерапии в лечении узловых образований щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Ярославль, 2004. — С.137-140.
7. Клименков А.П., Лебедева Т.П., Пашевский С.А. и др. Непосредственные и отдаленные результаты деструкции доброкачественных узлов щитовидной железы этанолом // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — СПб., 2003. — Т. 1. — С.122-124.
8. Младенцев П.И., Резниченко С.Г., Младенцева Т.В. Методы повышения эффективности склеротерапии образований щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — СПб., 2003. — Т. 1. — С.159-160.
9. Мозутов М.С., Александров Ю.К., Патрунов Ю.Н. Возможности прогноза эффективности малоинвазивных методов в лечении узлового зоба // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Ярославль, 2004. — С.173-175.
10. Нарышкина С.В., Казакова М.Г., Олиферова О.С., Русаков А.А. и др. Чрескожная склеротерапия этанолом кист и узлов щитовидной железы // Диагностика и лечение узлового зоба. — М., 2004. — С.206-207.
11. Селиверстов О.В., Яровой Н.Н. Десятилетний опыт применения склеротерапии этанолом в лечении заболеваний щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. — Ярославль, 2004. — С.238-240.
12. Gonthier B, Signorini-Allibe N, Soubeyran A. et al. Ethanol can modify the effects of certain free radical-generating systems on astrocytes // Alcohol. Clin. Exp. Res. — 2004. — Vol. 28, № 4. — P.26-34.
13. Guglielmi R, Pacella C.M, Bianchini A. et al. Percutaneous ethanol injection treatment in benign thyroid lesions: role and efficacy // Thyroid. — 2004. — Vol. 14, № 2. — P.125-131.
14. Kubota S, Takeo I, Kume K. et al. Effect of ethanol on cell growth of budding yeast: genes that are important for cell growth in the presence of ethanol // Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2004. — Vol. 68, № 4. — P.968-972.
15. Valcavi R, Frasoldati A. Ultrasound-Guided percutaneous ethanol injection therapy in thyroid cystic nodules // Endocr. Pract. — 2004. — Vol. 10, № 3. — P.269-275.

© ПАШОВ А.И., БУЛЫГИН Г.В., ЦХАЙ В.Б., ДЫХНО Ю.А., ПЛАТОНОВА Л.Н. —

АКТИВНОСТЬ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ АДЕНОКАРЦИНОМ ЭНДОМЕТРИЯ

А.И. Пашов, Г.В. Булыгин, В.Б. Цхай, Ю.А. Дыхно, Л.Н. Платонова

(Красноярская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. И.П.Артюхов; кафедра клинической иммунологии, зав. — д.м.н., проф. Г.В.Булыгин; кафедра перинатологии, акушерства и гинекологии, зав. — д.м.н., проф. В.Б.Цхай; кафедра онкологии, зав. — Ю.А.Дыхно; Краевая клиническая больница, гл. врач — Б.П.Маштаков, Краевой центр клинической иммунологии, г.Красноярск)

Резюме. Целью исследования является определение зависимости метаболических изменений в тканях аденокарцином эндометрия от степени дифференцировки опухоли. Обследованы 53 больные сопоставимого возраста в постменопаузе: здоровые женщины, больные с гистологически верифицированной высоко- или умеренно- (1 группа) и низкодифференцированной (2) аденокарциномой эндометрия I стадии. Установлено, что наиболее характерной особенностью реакций обмена в клетках низкодифференцированных аденокарцином является повышенный метаболический потенциал пролиферативных процессов, причем он значительно более высок, чем при первом патогенетическом варианте заболевания.

Ключевые слова. Рак эндометрия, метаболизм опухоли, ферменты.

Уровень активности внутриклеточных ферментов зависит от ряда параметров: суммарного эффекта нейрогуморальных регуляторных воздействий организма, фонда метаболитов и конфакторов, специфичных для конкретного фермента, его генетически запрограммированной «нормы реакции». В последние годы опубликованы результаты изучения метаболизма клеток некоторых тканей: например, исследовались адипоциты [1], клетки печени при вирусных гепатитах [3], ткань поджелудочной железы в эксперименте и у больных разными формами панкреатита [5]. Представленные в литературе данные не только достаточно информативно отражают особенности реакций обмена в исследованных тканях, но и в ряде случаев служат обоснованием для включения в комплексную терапию больных препаратов, способных воздействовать на метаболизм, что является важным элементом патогенетического лечения и дает положительный клинический эффект.

Результатов же изучения метаболических процессов ткани новообразований эндометрия в доступной литературе нами не обнаружено.

Материалы и методы

Обследованы 53 больных аденокарциномой эндометрия I стадии, которые включены в следующие группы в зависимости от ретроспективной оценки опухолей: 1 группа — с гистологически верифицированными высоко- или умереннодифференцированными аденокарциномами (первый патогенетический вариант [2] — 36 человек, средний возраст $59,89 \pm 1,02$ года). Во 2 группу включены 17 женщин ($60,35 \pm 1,62$ года) с низкодифференцированными опухолями (второй патогенетический вариант). Контрольную группу составили 16 человек (средний возраст — $59,70 \pm 0,86$ года). Все обследованные женщины находились в постменопаузе длительностью от 5 до 10 лет.

Из ткани эндометрия, получаемой при гистероскопии для морфологического исследования, которая по макроскопической оценке не была подвергнута изменениям (в контрольной группе), или в опухолевой ткани (1 и 2 клинические группы), производилось выделение фрагмента массой 3–5 мг. Ткань с фиксированной на аналитических весах массой разрушали в гомогенизаторе, а затем — добавлением дистиллированной воды и 2-кратным замораживанием-размораживанием. Полученную суспензию центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, используя в дальнейшем для исследований надосадочную жидкость. Биоломинесцентным методом с бактериальной люциферазой [6] 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),

Таблица 1

Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/мкг ткани) в клетках опухоли при аденокарциномах эндометрия высокой и умеренной степени дифференцировки (M±m)

Показатели	Контроль (n=16)	1 группа (n=36)	
Г6ФДГ	2,70±0,35	4,18±0,31	P<0,01
ГЗФДГ	26,50±2,16	29,83±1,69	P>0,05
ЛДГ	17,48±1,63	23,17±1,38	P<0,01
НАДИЦДГ	133,60±15,47	84,45±4,50	P<0,01
НАДФИЦДГ	61,10±6,11	42,53±2,15	P<0,01
НАДГДГ	21,66±2,01	32,95±1,69	P<0,001
НАДФГДГ	4,01±0,37	6,51±0,39	P<0,001
НАДМДГ	216,94±15,90	149,13±11,50	P<0,01
НАДФМДГ	4,47±0,33	7,14±0,48	P<0,001
ГР	51,81±5,21	72,91±3,38	P<0,001

Примечание: P — достоверность различий с контролем.

НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Активность ферментов выражалась в микроединицах на 1 микрограмм ткани (мкЕ/мкг).

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 и обсуждение

Оценка показателей активности ферментов в клетках опухолей эндометрия позволила выявить изменения интенсивности и направленности метаболических реакций, зависящие от гистологической характеристики опухолевой ткани. Перестройки внутриклеточных процессов в эндометрии больных, обусловленные морфологической дифференцировкой тканей, отражались на активности НАД(Ф)-зависимых ферментов. Изменения активности ферментов, имеющих различное функциональное предназначение, были разнонаправленными и усиливались, по сравнению с контролем, по мере снижения дифференцировки опухолей.

Первое, что обращало на себя внимание при анализе данных 1 группы больных (табл. 1), это более высокая активность большинства НАДФ-зависимых ферментов в опухолевой ткани. Известно, что содержание НАДФН, вырабатываемое в ходе реакций, катализируемых, например, ферментами Г6ФДГ и НАДФМДГ, обуславливает способность клеток к синтетическим и пластическим процессам [4,7], а в конечном итоге — к пролиферации.

Интенсивность энергопродуцирующих процессов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) была уменьшена, о чем свидетельствовало снижение активности реакций как начального (НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ), так и заключительного (НАДМДГ) его этапов. Пополнение субстратного потока в этом цикле происходило за счет более интенсивного, чем в контроле, поступления на ЦТК альфа-кетоглутарата, которое подтверждалось повышенными в 1,5 раза показателями активности НАДГДГ и НАДФГДГ. (Активность указанных ферментов определялась нами через реакцию с использованием в качестве субстрата глутамата натрия, что позволяло оценить работу ферментов, катализирующих процесс, протекающий с направленностью «глутамат-кетоглутарат», т.е. с аминокислотного обмена на цикл трикарбоновых кислот). По-видимому, усиленное использование субстрата аминокислотного обмена глутамата для обеспечения реакций ЦТК являлось одной из причин активации ГР (на 40,72%), которая, как известно [4], является важным элементом функционирования системы глутатиона и участвует в транспорте аминокислот в клетки. В то же время, увеличение показателя этого фермента можно связать и с более активной работой антиоксидантных механизмов, так как глутатион играет значительную роль в защите клеток от процессов перекисного окисления липидов.

Сниженная, по сравнению со здоровой тканью эндометрия, интенсивность процессов выработки АТФ в ЦТК до определенной степени компенсировалась активацией работы гликолиза за счет дополнительного поступления на него субстратов: в опухолях больных 1 группы определялась более высокой активностью ЛДГ (P<0,01) и недостоверно более высоким — показатель ГЗФДГ. Усиление субстратного обеспечения гликолиза осуществлялось и другим путем: пополнение субстратного потока цикла трикарбоновых кислот с аминокис-

лотного обмена сопровождалось и активным оттоком субстратов с данного цикла. Это подтверждали показатели ферментов, контролирующих реакции переработки одного из конечных продуктов ЦТК — малата. Первый из них — НАДМДГ, сохраняющий объем субстрата в ЦТК — определялся на 31,28% менее активным по сравнению с контролем, а второй — НАДФМДГ, перерабатывающий субстрат с образованием на гликолизе пирувата — на 59,73% повышал свою активность.

Таким образом, при первом патогенетическом варианте аденокарциномы эндометрия обладают высоким потенциалом метаболические реакции, обеспечивающие пролиферацию клеток опухоли; снижается субстратный поток по ЦТК, что компенсируется дополнительным поступлением на него метаболитов с аминокислотного обмена; интенсифицируется работа гликолиза за счет усиленного обеспечения субстратами, поступающими по пути малат-пируват и с липидного обмена.

При втором патогенетическом варианте (низкодифференцированные аденокарциномы) большинство из изменений активности ферментов имели ту же направленность (по сравнению с контролем), что и в группе больных с высоко- и умереннодифференцированными аденокарциномами эндометрия (табл. 2).

Активность Г6ФДГ, достоверно отличалась как от контроля (P<0,001), так и от показателя больных с высоко- и умереннодифференцированными аденокарциномами (P<0,001). Это наряду с изменениями активности других НАДФ-зависимых ферментов — уровни НАДФГДГ и НАДФМДГ соответственно в 3,83 и 4,94 раза превышали аналогичные значения контроля (P<0,001) и первой группы больных (в 2,5 и 3 раза соответственно; P<0,001) — подтверждало еще более высокие, чем в 1 группе, способности клеток опухолей к пролиферации. Подобным образом и активность ГР была выше контрольной в 2 раза (P<0,001) и почти в 1,5 раза выше, чем при первом патогенетическом варианте заболевания (P<0,001).

Как и в группе больных с первым патогенетическим вариантом заболевания, активность НАДИЦДГ была ниже, чем в контроле (в 3,48 раза; P<0,001). Кроме того, показатель определялся и вдвое ниже, чем в предшествующей группе больных женщин (P<0,001). Сохранялась и отмеченная в предыдущей группе тенденция

Таблица 2

Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/мкг ткани) в клетках опухоли при аденокарциноме эндометрия низкой степени дифференцировки (M±m)

Показатели	Контроль (n=16)	2 группа (n=17)	
Г6ФДГ	2,70±0,35	9,05±0,51	P<0,001
ГЗФДГ	26,50±2,16	69,35±3,76	P<0,001
ЛДГ	17,48±1,63	12,98±0,81	P<0,05
НАДИЦДГ	133,60±15,47	38,38±2,18	P<0,001
НАДФИЦДГ	61,10±6,11	20,46±1,39	P<0,001
НАДГДГ	21,66±2,01	66,72±4,11	P<0,001
НАДФГДГ	4,01±0,37	15,39±0,96	P<0,001
НАДМДГ	216,94±15,90	34,18±1,93	P<0,01
НАДФМДГ	4,47±0,33	22,12±1,79	P<0,001
ГР	51,81±5,21	104,77±4,73	P<0,001

Примечание: P — достоверность различий с контролем.

к изменению НАДФИЦДГ: активность этого фермента определялась менее высокой — в 2 раза, по сравнению со значением 1-ой клинической группы (P<0,001), и почти в 3 — по сравнению с контролем (P<0,001). Подобным же образом и активность другого фермента цикла Кребса — НАДМДГ — была в 6,34 раза менее высокой, чем в группе контроля (P<0,001), и в 4,36 - ниже уровня показателя при первом патогенетическом варианте заболевания (P<0,001).

Два других НАД-зависимых фермента были значительно более активными, как по сравнению с контролем, так и по отношению к уровням их показателей в предыдущей группе больных. Активность НАДГДГ, определявшаяся в 1 группе на 51,12% выше контрольного значения (P<0,001), во 2 - была выше контроля более, чем в 3 раза (P<0,001), достоверно превышая и показатель 1 группы (P<0,001). Более выражены были и изме-

нения активности ГЗФДГ. Если в первой группе больных этот фермент был незначительно (P>0,05) активнее, чем в контроле, то у женщин с низкодифференцированными аденокарциномами показатель ГЗФДГ определялся в 2,62 раза более высоким (P<0,001).

Фермент, для которого отмечены неоднозначные изменения его уровня в разных клинических группах, это ЛДГ. В высоко- и умереннодифференцированных опухолях его показатель определялся достоверно выше, чем в контрольной группе (P<0,01), а в низкодифференцированной ткани он был ниже, как контроля (P<0,05), так и значения группы больных с первым патогенетическим вариантом (P<0,001).

Таким образом, при анализе показателей активности метаболических ферментов в ткани низкодифференцированных аденокарцином эндометрия установлено, что особенности изменений интенсивности и направленности обменных реакций в ней, во многом совпадают с зафиксированными в ткани высоко- и умереннодифференцированных опухолей. При этом большинство изученных ферментных показателей в еще большей степени, чем при первом патогенетическом варианте опухолевого процесса, отличаются от соответствующих значений группы контроля. Наиболее же характерной особенностью реакций обмена в клетках низкодифференцированных аденокарциномах является повышенный метаболический потенциал пролиферативных процессов, причем он значительно более высок, чем при первом патогенетическом варианте заболевания.

Результаты изучения активности внутриклеточных НАД(Ф)-зависимых ферментов в аденокарциномах эндометрия различной степени дифференцировки позволяют заключить, что метаболические перестройки, характерные для этих опухолевых тканей, направлены на повышение их пролиферативных возможностей при снижении интенсивности энергопродуцирующих реакций.

THE ACTIVE OF NAD(P)-DEPENDENT ENZYMES IN THE TISSUES OF ENDOMETRIUM ADENOCARCINOMA

A.I.Pashov, G.V.Bulygin, V.B.Tchay, Yu.A.Dykhno, L.N.Platonova
(State Medical Academy, Krai Clinical Hospital, Krai Center of Clinical Immunology)

The aim of the research is to define the dependence of metabolic changes in the tissues of endometrium adenocarcinoma on the differentiating degree of tumor. 53 patients of comparable age were examined: healthy women, patients with histologically verifiable of highly, moderately (group 1) and differentiated (2) endometrial adenocarcinoma in the 1st stage. It is stated that the most characteristic peculiarity of the metabolism reactions in the cells of low differentiated adenocarcinoma is high metabolic potential of the proliferative processes, that is much higher than in the first pathogenic variant of the disease.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрейчиков А.В. Подвижная почка или метаболический паттерн «отмеченных» нефроптозом. — Новосибирск: СО РАН, 2002. — 186 с.
2. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. — СПб.: «ООО Издательство Фолиант», 2002. — 542 с.
3. Бulygin В.Г., Аксенова Н.А., Бulygin Г.В. и др. Ферменты крови и ткани печени детей, больных хроническим вирусным гепатитом В // Этно-экологические особенности ассоциации инфекционных факторов и патологии органов пищеварения у взрослого и детского населения / Лекции, обзоры и тезисы докладов Всероссийской конференции. — Красноярск, 2001. — С.249-250.
4. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. — Екатеринбург: ИПП «Уральский рабочий», 1994. — 384 с.
5. Назаров И.П., Винник Ю.С., Дунаевская С.С. Иммунопатология в хирургии и анестезиологии. — Красноярск, 2003. — 279 с.
6. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биоломинесцентным методом // Лабораторное дело. — 1989. - № 11. — С.23-25.
7. Строев Е.А. Биологическая химия. — М.: Высш. шк., 1986. — 479 с.