

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.433

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ АКРОМЕГАЛИЕЙ

М.А. Дудина¹, С.А. Догадин¹, А.А. Савченко²

¹ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Минздравсоцразвития России

²НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск
E-mail: margo85_@bk.ru

FEATURES OF METABOLISM OF BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ACROMEGALY

M.A. Dudina¹, S.A. Dogadin¹, A.A. Savchenko²

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

²Institute for Medical Problems of the North of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Krasnoyarsk

Исследованы особенности метаболизма лимфоцитов у больных активной акромегалией. Состояние ряда метаболических процессов в лимфоцитах крови при акромегалии характеризуется высокой интенсивностью наработки интермедиатов для реакций макромолекулярного синтеза и аэробных процессов при снижении активности глутатион-зависимой антиоксидантной системы. При акромегалии происходит разобщение между повышенным окислением субстратов в цикле Кребса и интенсивностью фосфорилирования АДФ, приводящее к пониженному образованию АТФ и недостаточности клеточного дыхания. Эти изменения внутриклеточного метаболизма лимфоцитов у больных акромегалией соответствуют нарушению функциональной реактивности клеток иммунной системы и могут являться метаболической основой для развития онкологических осложнений акромегалии.

Ключевые слова: акромегалия, лимфоциты, дегидрогеназы, внутриклеточный метаболизм.

Authors studied the lymphocytes metabolism in patients with active acromegaly. The state of a number of metabolic processes in lymphocytes under acromegaly is characterized by high intensity of intermediators formation for macromolecular synthesis and aerobic process while decreasing the activity of glutathione-dependent antioxidant system. Acromegaly also causes the disconnection between the high level of oxidation reaction in Krebs cycle and ADP phosphorylation leading to depression of ATP formation and cell breath insufficiency. These changes in intracellular metabolism of blood lymphocytes in acromegalics correspond to functional reactivity disorders of immune cells and may appear as metabolic basis of oncological complication in acromegaly.

Key words: acromegaly, lymphocytes, dehydrogenases, intracellular metabolism.

Акромегалия представляет собой тяжелое нейроэндокринное заболевание, обусловленное длительной нерегулируемой гиперсекрецией гормона роста (СТГ). Ведущей причиной акромегалии является патологическая пролиферация соматотропных клеток аденогипофиза с развитием аденомы [1]. Нерегулируемая гиперсекреция опухолью СТГ, стимулирующего продукцию тканевых гормонов-посредников – инсулиноподобных ростовых факторов ИФР-I и ИФР-II, способствует развитию в организме множественных системных и обменных нарушений, среди которых выделяют акромегалическую кардиомиопатию, артериальную гипертензию, респираторную

недостаточность, остеоартропатию, сахарный диабет, вторичные онкологические заболевания, а также нарушения в функционировании иммунной системы [6, 7, 9]. Следствием продолжительного воздействия повышенных концентраций СТГ и ИФР-I является не только прогрессирующее увеличение объема и нарушение дифференцировки клеточной массы, но и изменение функциональной активности клеток иммунной системы. Расстройства важнейших внутриклеточных биохимических процессов создают низкий противоопухолевый потенциал иммунцитов и способствуют развитию различных неопластических процессов, которые оказывают негативное влия-

ние на качество и продолжительность жизни больных акромегалией [13–15].

Известно, что функциональное состояние любой клетки организма в значительной степени зависит от внутриклеточных метаболических процессов. Особенности метаболизма клеток в наибольшей степени отражают дегидрогеназы, характеризующие, в основном, два типа метаболических процессов, от которых зависит функционирование клетки – энергетику и синтез [3]. В свою очередь, СТГ и подконтрольный ему ИФР-I являются важнейшими модуляторами функциональной активности иммунных клеток, так как реализуют свое воздействие через рецепторный аппарат на систему внутриклеточного обмена и ряд важнейших биохимических реакций лимфоцитов [8, 10, 12]. Зависимость синтетических и энергетических процессов от концентрации ростовых факторов позволяет использовать лимфоциты периферической крови в качестве объекта исследований нарушений внутриклеточного обмена веществ при акромегалии [5]. Целью данного исследования являлось изучение активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных активной акромегалией.

Материал и методы

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови исследована в группе из 44 больных с активной акромегалией, из них 27 (61,3%) женщин и 17 (38,6%) мужчин. Средний возраст больных составлял $49,1 \pm 11,9$ лет. Длительность латентного периода акромегалии у обследуемых больных оказалась равна 3,5 лет (от 0 до 16 лет). Контрольная группа состояла из 53 практически здоровых людей, соответствующих по возрасту и полу основной группе. Диагноз акромегалии был выставлен на основании анамнеза, объективного осмотра, определения уровней ИФР-I и СТГ в крови натощак, а также в процессе орального глюкозотолерантного теста (ОГТТ). Всем обследованным больным проводилась магнитно-резонансная томография (МРТ), при этом учитывали направление роста, характер распространения, структуру и максимальный размер соматотропиномы в сагиттальной (передне-задней), аксиальной (вертикальной) и фронтальной плоскостях. Активная стадия диагностировалась согласно критериям консенсуса по диагностике и лечению акромегалии [11]. Маркерами активной стадии заболевания являлись следующие критерии: клинические признаки активности процесса, содержание ИФР-I выше соответствующей возрастной и половой нормы, превышение уровня СТГ в сыворотке крови более 0,4 нг/мл натощак, а также отсутствие подавления уровня СТГ менее 1 нг/мл при проведении ОГТТ с 75 г глюкозы. Гормональное исследование осуществляли в гормональной лаборатории эндокринологического центра ГБУЗ Красноярская краевая клиническая больница, для чего забор крови из кубитальной вены больных проводили между 8 и 9 ч утра натощак. Определение содержания в сыворотке крови СТГ и ИФР-I проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов GH ELISA (DBC, Канада) и IGF-I ELISA (IDS, США). Концентрация ИФР-I у обследуемых больных в последующем

составлялась с возрастными и половыми нормами по таблицам лаборатории Esoterix (США). Повышенный уровень ИФР-I представлен как процент от верхней границы возрастной и половой нормы. Глюкозотолерантный тест с нагрузкой 75 г глюкозы для выяснения степени активности акромегалии выполняли, измеряя исходный уровень СТГ в плазме крови и сравнивая с показателями СТГ через 30, 60, 90 и 120 мин. Активная стадия акромегалии регистрировалась при отсутствии снижения концентрации СТГ ниже 1 нг/мл за период проведения теста.

Биолюминесцентным методом определяли активность глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), НАД- и НАДН-зависимых реакций лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимых реакции малатдегидрогеназы (МДГ), маликфермента (НАДФМДГ), прямых и обратных реакций НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР) [2, 3]. Анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ STATISTICA for Windows, Release 7.0 (StatSoft, Inc., США). Проверка количественных данных на нормальность проводилась с помощью теста Шапиро–Уилкса (Shapiro–Wilks W-test). По результатам теста гипотеза о нормальности распределения данных отвергнута. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного интервала между 25-м и 75-м процентилем (Ме [C₂₅–C₇₅]). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Анализ связи признаков проводился с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Критический уровень значимости нулевой гипотезы был принят равным 0,05.

Результаты и обсуждение

У больных с активной акромегалией на фоне ярких клинических признаков заболевания (увеличение стоп и кистей, надбровных дуг, выступание нижней челюсти, выраженные головные боли, рефрактерная к терапии артериальная гипертензия и др.) выявлялись крайне высокие концентрации ростовых факторов в сыворотке крови. Уровень базального СТГ у обследуемых больных составил 20,6 (9,7; 60,4) нг/мл, при отсутствии его подавления менее 1 нг/мл в ходе ОГТТ, а концентрация ИФР-I – 740,4 (508,6; 912,3) нг/мл, причем последний при расчете в процентах от верхней границы возрастной и половой нормы, оказался повышен на 10–81%. При визуализации хиазмально-селлярной области методом МРТ выявлено наличие макроаденомы у большинства пациентов и лишь у 9 (21%) размеры опухоли составляли менее 10 мм в диаметре (микроаденомы).

При исследовании особенностей метаболического статуса у больных акромегалией обнаружена высокая активность Г6ФДГ и МДГ по сравнению с контрольной группой (табл.).

Г6ФДГ является ключевым и иницирующим ферментом окислительной фазы пентозофосфатного пути, конечные продукты которого (НАДФН и рибозо-5-фосфат)

Таблица

Активность НАД (Ф) – зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови у здоровых людей и больных акромегалией (Ме [C₂₅–C₇₅])

Ферменты	Контроль, n=53		Акромегалия, n=44		p
	Ме	C ₂₅ –C ₇₅	Ме	C ₂₅ –C ₇₅	
Г6ФДГ	0,01	0,01–1,89	6,14	0,07–135,14	<0,001
Г3ФДГ	0,03	0,01–1,12	0,78	0,01–18,05	–
ЛДГ	2,62	0,01–28,04	2,75	0,01–110,12	–
НАДФМДГ	0,01	0,01–0,48	0,01	0,01–53,68	–
НАДФГДГ	0,01	0,01–1,19	0,01	0,01–9,69	–
МДГ	0,01	0,01–1,78	19,49	0,01–89,35	0,001
НАДГДГ	0,01	0,01–0,75	0,01	0,01–1,84	–
НАДН-ЛДГ	0,74	0,01–9,10	0,27	0,01–1,01	–
НАДН-МДГ	5,67	0,36–20,55	0,28	0,06–1,02	<0,001
ГР	0,05	0,01–2,73	0,01	0,01–0,07	<0,001
НАДН-ГДГ	1,15	0,01–6,21	0,05	0,01–0,25	0,001
НАДФН-ГДГ	2,08	0,13–67,63	0,37	0,07–0,59	<0,001

Примечание: p – статистически достоверные различия с величиной контрольных показателей.

участвуют в таких реакциях макромолекулярного синтеза, как образование нуклеиновых, жирных кислот, стероидов [2, 5].

Высокая активность этого фермента в лимфоцитах больных акромегалией свидетельствует о повышенном синтезе указанных субстратов и интенсивности пластических процессов при данной патологии. Известно, что Г6ФДГ тесно взаимосвязана с глутатионовой системой антиоксидантной защиты [3, 5].

Но, несмотря на значительную активность Г6ФДГ при акромегалии, наблюдалось снижение активности ГР. Возможно, в связи с низкой активностью ГР при акромегалии нарастает дефицит цистеина, недостаток которого в клетках иммунной системы приводит к развитию иммунодефицитных состояний [4].

Выявленное нарушение баланса между воздействием прооксидантных факторов и функциональными возможностями антиоксидантной системы при акромегалии ведет к избыточному неферментному свободнорадикальному окислению, снижая тем самым функциональную активность лимфоцитов.

Кроме того, снижение активности НАДФГДГ и НАДГДГ у обследуемых больных позволяет предположить, что в условиях хронической гиперсекреции СТГ дефицит глутамата связан с резко возросшей потребностью в нем быстроспролиферирующих клеток. С этим же может быть связано и повышение активности МДГ в лимфоцитах крови у больных акромегалией, которое отражает интенсификацию субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, основного метаболического процесса в митохондриях, определяющего образование интермедиатов для аэробного дыхания. В то же время в группе больных акромегалией наблюдалось снижение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, которая является ключевой в системе малат-аспартатного водородного шунта митохондрий и поддерживает водородный градиент для осуществления окислительного фосфорилирования. Кроме того, выявленные обратные взаимосвязи между уровнями активности ферментов и ростовыми факторами (СТГ и НАДН-ГДГ ($r=-0,52$; $p=0,014$), ИФР-I и НАДФН-ГДГ ($r=-0,56$; $p=0,007$)) отражают регуляторные влияния СТГ/

ИФР-I оси на внутриклеточный метаболизм. Данный феномен подтверждает наличие интегрированных взаимодействий между ростовыми факторами и важнейшими метаболическими реакциями лимфоцитов, следовательно, их концентрация отражает особенности регуляции различных сторон внутриклеточного обмена веществ при акромегалии.

Заключение

Таким образом, описанные выше изменения метаболизма лимфоцитов имеют определенное значение в обеспечении адаптационных механизмов, перестройке иммунитета, повышении резистентности всего организма при таком тяжелом заболевании, как акромегалия. Метаболизм лимфоцитов при акромегалии отличается разнонаправленностью внутриклеточных биохимических процессов с преобладанием реакций макромолекулярного синтеза и недостаточности таких важных энергетических субстратов клетки, как глутаматергическая система и глутатионовый комплекс.

Литература

1. Мельниченко Г., Пронин В. Современные схемы фармако-терапии акромегалии // Врач. – 2008. – № 8. – С. 9–13.
2. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биoluminesцентным методом // Лабораторное дело. – 1989. – № 11. – С. 23–25.
3. Савченко А.А. Биoluminesцентное определение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ лимфоцитов // Лабораторное дело. – 1991. – № 11. – С. 22–25.
4. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Дергачева Т.И. и др. Циркадные вариации метаболической реакции лимфоцитов крови людей на гормональные стимулы в норме и при развитии иммунодефицита // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – Т. 119, № 2. – С. 181–183.
5. Biagotti E., Bosch K.S., Ninfali P. et al. Posttranslational regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in tongue epithelium // J. Histochem. Cytochem. – 2000. – Vol. 48, No. 7. – P. 971–977.
6. Colao A., Barkan A. L., Scarpa R. Growth hormone/insulin-like

- growth factor-I system and connective tissues: basic aspects and clinical implications // *Rheum. Dis. Clin. N. Am.* – 2005. – Vol. 31, No. 1. – P. 29–42.
7. Colao A., Ferone D., Marzullo P. et al. Acromegaly and immune function // *NeuroImm. Biol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 247–257.
 8. Geffner M. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on T- and B-lymphocytes and immune function // *Acta Paediatr.* – 1997. – Vol. 423, No. 1. – P. 76–79.
 9. Jenkis P.J., Bustin S.A. Evidence for a link between IGF-I and cancer // *Eur. J. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 151. – P. 17–22.
 10. Kelley K.W. From hormones to immunity: the physiology of immunology // *Br. Behav. Imm.* – 2004. – Vol. 18, No. 2. – P. 95–113.
 11. Melmed S., Colao A., Barkan A. et al. Guidelines for acromegaly management: an update // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 10. – P. 1–30.
 12. Tenore A. The expression and function of GH/IGF-I receptors in the immune system // *NeuroImm. Biol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 67–86.
 13. Van Buul-Offers S.C. The role of growth hormone and insulin-like growth factors in the immune system // *Cell Mol. Life Sci.* – 1998. – Vol. 54, No. 10. – P. 1083–1094.
 14. Weigent D.A. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 production by cells of the immune system // *NeuroImm. Biol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 87–100.
 15. Wolk A. The growth hormone and insulin-like growth factor I axis, and cancer // *Lancet.* – 2004. – Vol. 363, No. 9418. – P. 1336–1337.

Поступила 12.08.2011