

## **РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИСБАЛАНСА БИОГЕННЫХ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ**

Диагностика и лечение больных с заболеваниями молочных желез в настоящее время являются актуальнейшей проблемой клинической маммологии и хирургии. Различными формами мастопатии страдают от 20 до 60% женщин. Интерес онкологов к мастопатии связан с тем, что она является фоном для последующего возникновения рака молочной железы.

Обнаруженные у больных женщин изменения концентраций МЭ в сыворотке крови и их взаимосвязи с содержанием АК указывают на их прямое или косвенное участие в развитии фиброаденомы молочной железы и служат основанием для дальнейших исследований с целью использования отдельных МЭ и АК в патогенетической терапии.

**Ключевые слова:** макро– и микроэлементы, аминокислоты, доброкачественные заболевания молочной железы.

В настоящее время в большинстве стран отмечается тенденция к неуклонному росту числа больных с патологией, в генезе которой ведущая роль отводится дисбалансу микро– и макроэлементного обмена и нарушениям в формировании внутриклеточного фонда аминокислот. Актуальной в данном случае является проблема патогенетической роли изменений в аминокислотном и элементном метаболизме, а также обусловленная этим оптимизация способов терапии и целенаправленной метаболической коррекции злокачественных новообразований (ЗН). Злокачественные новообразования последние десятилетия являются одной из наиболее острых медико-социальных проблем. За период с 2000 по 2008 годы уровень заболеваемости ЗН в Российской Федерации увеличился на 11% и достиг 3457 случаев на 1млн. человек [1]. Свердловская область относится к регионам с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по онкологическим заболеваниям. В период с 2000 по 2008 годы уровни заболеваемости и смертности от злокачественных заболеваний в области превышали таковые по стране в целом, в связи с чем эта проблема вошла в ранг приоритетных для Свердловской области [1]. Так, в 2010 году в области зарегистрировано 15365 новых случаев ЗН, в том числе 80 случаев у детей [2]. На учете в онкологической службе состоит 1,8% населения области [2]. Проблемой клинической маммологии и хирургии является

диагностика и лечение больных с заболеваниями молочных желез, что связано с высокими темпами роста распространенности данного заболевания (различными формами мастопатии страдают от 20 до 60% женщин) [3]. Внимание онкологов к мастопатии определяется и тем, что она зачастую является фоном для последующего возникновения рака молочной железы (РМЖ). Так, риск развития РМЖ у женщин с мастопатией в 3-5 раз выше, чем в общей популяции.

По данным Всемирной Организации Здравоохранения уже в 2002 году в мире диагностировано 1 млн.150 тыс. новых случаев рака молочной железы (23% от всех опухолей), причем 55% больных с РМЖ регистрируется в развитых странах, а 45% – в развивающихся. В России в структуре новообразований, выявленных при профилактических осмотрах, первое ранговое место занимает рак молочной железы (20,8%), причем I и II стадии РМЖ диагностируются в 61,4% [3]. Рак молочной железы является главной причиной онкологической смертности у женщин. В структуре онкологической заболеваемости населения Свердловской области лидирует рак молочной железы (11,8%) [2]. РМЖ в структуре смертности населения занимает 3-е место и составляет 8,5% [3].

В развитых странах пятилетняя выживаемость от РМЖ составляет 75%, тогда как в развивающихся – 57%. Соотношение умерших от

этого заболевания к заболевшим неблагоприятно для России (в 2 раза больше, чем в США). За восемь лет смертность от РМЖ в Российской Федерации увеличилась на 13%, причем 2/3 случаев рака молочной железы регистрируется в период постменопаузы. В США ежегодно диагностируются 56000 больных с предраком молочной железы, в России такой статистики нет [4].

Вместе с тем известно, что функционирование молочной железы регулируется множеством эндокринных и метаболических процессов, что предполагает возможность использовать в лечении не только цитостатики, но и более физиологичные лекарственные препараты [5,6]. На фоне многочисленных морфологических изменений, свидетельствующих об инициации роста, опухолевый рост тканей сопровождается развитием целого ряда нарушений в метаболических процессах, в регуляции активности которых значительная роль принадлежит аминокислотам (АК) и их производным, определяющим интеграцию основных метаболических потоков в организме [7]. Аминокислоты, обладающие разносторонней биологической активностью и входящие в состав цитокинов и пептидов в качестве структурных элементов, осуществляют регуляцию репаративных процессов в тканях организма за счет стимуляции клеточной пролиферации или ее торможения при апоптозе [8].

Проблема специфичности микроэлементного (МЭ) обмена тканей опухолей представляет определенный интерес, поскольку биогенные элементы участвуют в процессах пролиферации, апоптоза клеток, формирования структуры белков и нуклеиновых кислот, в процессах тканевого дыхания, кроветворения, иммунных реакциях, присутствуют в активных центрах ферментов, гормонов. Микроэлементы выступают в роли катализаторов или ингибиторов биохимических процессов, присутствуя в организме как в ионной форме, так и в виде комплексных соединений с биолигандами.

Успехи в лечении доброкачественных и злокачественных новообразований связаны, с одной стороны, с более ранним выявлением заболевания, а с другой – с комплексным подходом к лечению и поиском его новых эффективных методов. Восстановительное лечение больных, получивших радикальную терапию доброкачественных и злокачественных новообразований, представляет достаточно трудную задачу, о чем

свидетельствует множество предложенных как оперативных, так и консервативных методов. Сегодня востребован поиск принципиально новых подходов, так как экстенсивное наращивание мощности молекулярно-эпидемиологических исследований в последние годы не принесло ожидаемых результатов. Поиск специфических активных веществ, направленных как на активацию или инактивацию ключевых биохимических компонентов опухолевой трансформации, так и на поддержание метаболического гомеостаза организма, в том числе и эффекторов врожденного противоопухолевого иммунитета, обращает наше внимание к исследованию аминокислот и микроэлементов и их противоопухолевых свойств.

Исследование биогенных макро- и микроэлементов и аминокислотного фонда сыворотки крови женщин может способствовать пониманию механизмов патогенеза доброкачественных заболеваний молочной железы, что может быть использовано в терапии и реабилитации данных больных.

#### Материалы и методы

В основу работы положены клинические наблюдения за больными и соматически здоровыми женщинами. Возрастной диапазон пациенток – от 23 до 41 года. Для проведения исследований были сформированы две группы. В контрольную группу (n=12) включены соматически здоровые пациентки, не обращавшиеся в лечебные учреждения в течение последнего года, не имеющие онкологической патологии в анамнезе. Вторую группу (n=14) составили женщины с доброкачественным заболеванием молочных желез, классифицируемым согласно гистологической классификации доброкачественных опухолей (ВОЗ, 1984) как фиброаденома молочной железы (ФА). При пальпации определяется плотный узел с четкими границами, подвижный, безболезненный, без кожных симптомов. Рентгенологическая и ультразвуковая диагностика во всех случаях позволяют подтвердить диагноз. Тактика лечения – секторальная резекция со срочными гистологическими исследованиями. Все диагнозы подтверждены гистологически.

Всем женщинам проведено полное исследование сыворотки крови на свободные аминокислоты. Забор крови и ее анализ проводился по стандартной методике. Аминокислотный спектр

крови определяли методом ионообменной хроматографии на автоматическом анализаторе («AAA – 339M», Чехия). Кровь центрифугировали 15 минут при 8000 об/мин в рефрижераторной ультрацентрифуге («K-23D», Германия) Вторичное центрифугирование супернатанта проводили с осаждением белков в течение 30 минут при 15000 об/мин. Для каждого исследуемого образца на хроматограмме прописывался весь спектр свободных аминокислот и определялась концентрация каждой из них в мкмоль/л.

Пробоподготовку образцов для определения микроэлементов проводили в соответствии с требованиями и методическими рекомендациями, утвержденными МЗ РФ в 1999 году. Содержание МЭ в сыворотке крови пациенток исследовали методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрофотометре («AAS-3», Германия) и на приборе «Analyst 100» (фирмы Perkin Elmer, США) [9, 10]. Концентрацию МЭ в сыворотке крови определяли в мкг/мл.

В качестве интегрального показателя метаболического гомеостаза как в физиологических условиях, так и при различных нарушениях, отражающих определенные патологические состояния, использовали метод определения уровня молекул средней массы (МСМ) в крови [11]. МСМ – маркер эндогенной интоксикации, распространенного неспецифического синдрома. Степень эндотоксикоза оценивали биохимическим методом Н.И.Габриэлян [12]. Уровень эндогенной интоксикации исследовали путем определения МСМ при длине волны 280 нм на спектрофотометре Spescord M-40.

Математическая обработка полученных результатов проведена с использованием стандартных прикладных программ. При оценке однородности групп и достоверности различий средних между группами использовали параметрический t-критерий Стьюдента и непараметрический U-тест Манна-Уитни. Взаимозависимость между рядами оценивали с помощью рангового анализа сопряженности по Спирмену. Различия между сравниваемыми выборками считали достоверными при  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$ .

### **Результаты и их обсуждение**

Анализ МЭ в сыворотке крови у женщин с фиброаденомой молочной железы показал повышенное содержание эссенциальных:

Zn ( $p=0,035$ ), Ca ( $p=0,014$ ), Fe ( $p=0,013$ ), Mn ( $p=0,015$ ), по сравнению со здоровыми. У больных женщин (ФА) средний уровень цинка возрастает до  $7,20 \pm 1,08$  мкг/мл при тенденции к снижению поступления в кровь меди до  $0,96 \pm 0,16$  мкг/мл ( $p=0,035$ ). Взаимодействие обоих элементов имеет клиническое значение.

Поступление цинка в кровь возросло на 72%, железа – на 66%, кальция – на 53% и марганца – на 140%. Отмечено повышенное содержание ксенобиотиков в сыворотке крови у здоровых женщин и тенденция к их возрастанию у больных ФА: кадмия ( $0,01 \pm 0,003$  и  $0,02 \pm 0,002$  мкг/мл, соответственно) и свинца ( $0,1 \pm 0,012$  и  $0,17 \pm 0,046$  мкг/мл, соответственно), кобальта ( $0,09 \pm 0,011$  и  $0,11 \pm 0,017$  мкг/м, соответственно) и стронция ( $0,04 \pm 0,01$  и  $0,05 \pm 0,007$  мкг/мл, соответственно).

Исследования показали, что развитие ФА сопровождается нарушениями обмена цинка, железа, кальция, марганца, меди, магния, кадмия, свинца, что свидетельствует о возможной роли дисбаланса этих микроэлементов в развитии патогенеза мастопатии ( $p < 0,05$ ).

У практически здоровых женщин уровень молекул средней массы (МСМ) в сыворотке крови не превышал  $0,245 \pm 0,01$  ед.опт.пл. А у всех обследованных больных ФА наблюдается активация протеолиза: содержание МСМ ( $0,302 \pm 0,005$  ед.опт.пл.) статистически достоверно повышено ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о выраженных метаболических нарушениях у данного контингента больных. Исследования МСМ в крови женщин с ФА показали нарастающий уровень эндогенной интоксикации, вызванной интенсивный процессом дегградации белковых молекул, а также физиологически активных соединений.

Аминокислотный спектр сыворотки крови у всех женщин обладает постоянством и представлен 24 свободными аминокислотами. Установлено, что изменения по суммарному содержанию аминокислот в сыворотке крови между группой соматически здоровых ( $2222,1 \pm 59,636$  мкмоль/л) и группой женщин с доброкачественными новообразованиями молочных желез ( $2178,72 \pm 136,026$  мкмоль/л) были незначительными и статистически недостоверными ( $p > 0,05$ ).

Степень изменения содержания АК в сыворотке крови зависит от стадии развивающегося патологического процесса. Так, в группе жен-

щин с доброкачественными новообразованиями, в сравнении со здоровыми, наблюдали снижение суммарной концентрации незаменимых АК на 14%. Это, вероятно, обусловлено развитием белкового дефицита алиментарного генеза, на который указывает снижение соотношения незаменимых АК к заменимым (Кнез/зам=0,4) (табл. 1.). Развитие гипоаминоацидемии связано и с активным участием АК в ликвидации энергодефицита и избирательным использованием их на пластические нужды [7, 13].

У женщин с ФА наблюдали достоверное падение уровня незаменимых АК на фоне возрастания цитруллина в 2,0 раза ( $p=0,031$ ), треонина в 1,3 раза и высокомолекулярных аминокислот: глутаминовой – в 5,1 раза ( $p=0,0000$ ) и аспарагиновой – в 1,6 раза ( $p=0,035$ ). Блокирование катаболизма АК в опухолях обуславливает их накопление и последующее включение в синтез ферментов, необходимых для поддержания высокой интенсивности роста и деления опухоли [5]. Следует отметить обеднение пула серусодержащих АК: метионина на 16%, цистеина на 18% и цистеиновой кислоты – на 19,2%. Наблюдается достоверно значительное снижение концентрации таурина в 2,2 раза, участвующего в подавлении возросших перекисных процессов, и валина в 1,8 раза – аминокислоты необходимой для восстановления поврежденных тканей и поддержания азотистого обмена ( $p=0,004$ ). (табл. 1.) Содержание пролина – заменимой АК снижается на 42,5% ( $p=0,001$ ) и глицина – на 17% ( $p=0,05$ ).

Исследования показали достоверное повышение концентрации аминокислот, повышающих энергообеспечение и участвующих в синтезе белков: гистидина на 21% ( $p=0,05$ ), цитруллина на 198% ( $p=0,019$ ). Опухолевый процесс сопровождается прогрессирующим аминокислотным дисбалансом. Уровни аминокислот сыворотки крови коррелируют с содержанием исследованных биогенных макро- и микроэлементов (табл. 2).

Ранговый корреляционный анализ выявил в плазме крови женщин с мастопатией статистически достоверную сильную положительную связь между содержаниями цинка и изолейцина ( $r = 0,900$ ;  $p=0,037$ ) и сильные отрицательные связи между уровнями цинка и аспарагина ( $r = -0,975$ ;  $p=0,005$ ), цинка и серина ( $r = -0,900$ ;  $p=0,037$ ), что, несомненно, свидетельствует о значимой сопряженности цинка с этими ами-

Таблица 1. Фонд незаменимых аминокислот в сыворотке крови

АК (мкм/л)	Здоровые женщины	Женщины с ФАМ
THR	141,88±6,350	179,71±16,846
VAL	198,66±29,294	108,71±10,928*
MET	16,73±2,256	14,09±1,229
ILE	36,22±6,575	29,95±3,307
LEU	82,07±4,398	65,54±6,287
PHE	41,15±5,244	32,82±3,126
TRP	20,61±2,567	16,58±2,507
LYS	87,63±6,799	79,99±4,286
HIS	41,82±2,617	50,43±3,280*
ARG	22,55±2,990	15,07±1,413
Фонд свободных АК	2222,11±59,636	2178,72±136,026
Кнез/зам	0,5	0,4

Примечание: \* – показатели достоверно отличаются от контроля при  $p<0,05$

Таблица 2. Корреляционные связи между спектром МЭ и АК у женщин с ФА (Ранговый анализ сопряженности по Спирмену)

Корреляционные пары	r (Spearman)	p-level
Zn – Isoleucine	0,900000	0,037
Zn – Serine	-0,900000	0,037
Zn – Asparagine	-0,974679	0,005
Mg – Arginine	0,900000	0,037
Mg – Alanine	0,900000	0,037
Fe – Phenylalanine	0,900000	0,037
Fe – Tryptophan	0,900000	0,037
Fe – Proline	-0,900000	0,037
Fe – Cysteine	-0,900000	0,037
Fe – Serine	0,900000	0,037
Fe – Leucine	-0,900000	0,037
Mn – Ornithine	0,900000	0,037
Mn – Histidine	0,900000	0,037
Cu – Glycine	-0,900000	0,037
Cd – Lysine	0,894427	0,041
Cd – Tyrosine	-0,894427	0,041
Co – Tryptophan	-0,900000	0,037
Co – Phenylalanine	-0,900000	0,037
Pb – $\square$ AB	-0,921053	0,026
Pb – Histidine	-0,894737	0,040
Pb – Cysteine acid	-0,97468	0,005
Pb – Valine	-0,97468	0,005

нокислотами. Установлено, что содержание железа находится в прямой корреляционной зависимости с содержаниями серина, фенилаланина и триптофана ( $r = 0,900$ ;  $p = 0,037$ ). В то же время уровень содержания Fe в сыворотке крови не лимитирован метаболизмом заменимых АК – пролина, лейцина и цистеина, что подтверждает отрицательная корреляция между ними ( $r = -0,900$ ;  $p = 0,037$ ). Повышенные концентрации Mn индуцируют рост аминокислот: орнитина и гистидина как в тканях, так и в сыворотке крови ( $r = 0,900$ ;  $p = 0,037$ ). Статистически значимые положительные корреляционные связи ( $r = 0,900$ ;  $p = 0,037$ ) отмечены между магнием и аргинином, магнием и гидрофобной аминокислотой аланином. Показана отрицательная корреляционная зависимость между экотоксикантами: кобальтом и кадмием с незаменимыми АК: триптофаном, фенилаланином, лейцином ( $r = -0,900$ ;  $p = 0,037$ ), и заменимой аминокислотой тирозином ( $r = -0,894$ ;  $p = 0,041$ ). Кор-

реляционный анализ выявил в сыворотке крови женщин с ФА сильную отрицательную связь между содержанием свинца и г-аминомасляной кислотой ( $r = -0,921053$ ;  $p = 0,026$ ). Содержание валина, цистеиновой кислоты ( $r = -0,97468$ ;  $p = 0,005$ ) и гистидина ( $r = -0,894737$ ;  $p = 0,04$ ) находятся в обратной зависимости от концентрации ионов свинца в организме женщин.

У женщин с ФА имеют место нарушения гомеостаза в виде дефицита фонда незаменимых аминокислот, дисбаланса биогенных элементов, повышения уровня эндотоксинов в крови. Обнаруженные у больных женщин изменения концентраций МЭ в сыворотке крови и их взаимосвязи с содержанием АК указывают на их прямое или косвенное участие в развитии фиброаденомы молочной железы и служат основанием для дальнейших исследований с целью использования отдельных МЭ и АК в патогенетической терапии.

14.09.2011

**Список литературы:**

1. Турков С.Б. Оценка состояния онкологической помощи населению муниципальных образований Свердловской области. // Вестник Уральской медицинской академической науки – 2010. – №2. – С. 31–33.
2. Региональные особенности санитарно-эпидемиологической обстановки в Свердловской области за 2010 год (по материалам Государственного доклада «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Свердловской области» – Е-бург.: – 2011 – 63с.
3. Давыдов М.И., Летягин В.П. Семинар по клинической маммологии – М.: АБВ-пресс – 2006. – 104 с.
4. Гарин А.М., Базин И.С. Десять наиболее распространенных злокачественных опухолей – М.: – 2006 – 99 с.
5. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Дашян Г.А. Гормонотерапия рака молочной железы. (руководство). – М.: ООО «Инсайт полиграфик» – 2009 – 69 с.
6. Моисеенко В.М., Семиглазов В.Ф., Тюляндин С.А. Современное лекарственное лечение местно-распространенного и метастатического рака молочной железы. СПб.: Грифон – 1997.
7. Нефедов Л.И. Формирование фонда свободных аминокислот и их производных в условиях метаболического дисбаланса. Автореф. дис. ... докт. мед. наук – Минск. – 1993.
8. Чалисова Н.И., Пенниайнен В.А., Ноздрачев А.Д. Регулирующее действие аминокислот в органотипической культуре лимфоидных тканей с различной степенью иммунологической зрелости. // Доклады АН – 2003. – Т.389. №5. – С.714 – 717.
9. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. – М.: Химия – 1996. – 319 с.
10. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. – СПб.: Наука – 2008. – 543с.
11. Иванова В.Н. Оценка эффективности лечения и прогнозирования течения синдрома эндогенной интоксикации у хирургически больных с гнойно-септическими осложнениями: Автореф. дис.....канд.мед.наук. – Ставрополь, 2001.
12. Габриэлян Н.И., Дмитриев А.А., Кулаков Г.П., Мекикян А.М., Щербанева О.И. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях // Клиническая медицина -1981. – Т. LIX – №10. – С. 38–42.
13. Тарханова А.Э. Ковальчук Л.А. Состояние аминокислотного обмена у беременных женщин и их новорожденных // Росс. физиолог. журнал. им. И. М. Сеченова – 2004 – №90 (8). – С. 454–455.

Сведения об авторах:

**Тарханов Андрей Андреевич**, аспирант кафедры онкологии Уральской государственной медицинской академии Росздрава, врач-онколог ГБУЗ Свердловского областного онкологического диспансера, e-mail: andrey.tarkhanov@gmail.com

**Дорофеев Александр Владимирович**, профессор кафедры онкологии Уральской государственной медицинской академии Росздрава, врач-онколог ГБУЗ Свердловского областного онкологического диспансера, доктор медицинских наук

**Ковальчук Людмила Ахметовна**, заведующая лабораторией Проблем адаптации, ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук Института экологии растений и животных УрО РАН, e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru