

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

## Энзиматические показатели ткани опухоли и периферической крови больных аденокарциномой эндометрия

Красноярская Государственная Медицинская академия  
Красноярская краевая клиническая больница  
Красноярский краевой центр клинической иммунологии

**Р**ак эндометрия (РЭ), занимает первое место среди всех злокачественных новообразований гениталий у женщин [2, 7], является актуальной проблемой современной онкогинекологии.

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 дегидрогеназы, катализирующие важнейшие внутриклеточные реакции, в наибольшей степени отображают особенности метаболизма клеток. 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 разными формами панкреатита [6], внутриклеточный обмен адипоцитов [1], ткань печени при вирусных гепатитах [5]. Результатов же изучения процессов внутриклеточного обмена в тканях опухолей эндометрия в доступной литературе нами не обнаружено.

Известно, что энзиматические показатели периферической крови способны отражать не только влияния на метаболизм регуляторных систем организма, но и изменения обменных реакций в очаге патологического процесса. 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]. 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 [7].

Цель настоящего исследования – определить возможность оценки метаболических особенностей тканей аденокарцином эндометрия по энзиматическим показателям периферической крови.

Обследованы 53 больных аденокарциномой эндометрия I стадии, которые включены в следующие группы (первый и второй патогенетические варианты [2]) в зависимости от ретроспективной оценки опухолей: 1-я группа – с гистологичес-

ки верифицированными высоко- или умереннодифференцированными аденокарциномами (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 добавлением дистиллированной воды и 2-кратным замораживанием-размораживанием. Суспензию центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, используя в дальнейшем для исследований 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 3000 об/мин. Надосадочная жидкость использовалась для определения активности ферментов.

Биолюминесцентным методом с бактериальной люциферазой 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 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 Вилсона и Ван дер Вардена (для рядов с распределением, отличным от нормального).

В таблице 1 представлены результаты определения активности внутриклеточных ферментов в ткани аденокарцином и в эндометрии здоровых женщин. При анализе показателей установлено, что особенности изменений интенсивности и направленности обменных реакций в аденокарциномах во многом совпадают между собой вне зависимости от гистологической характеристики опухолей, но в ткани низкодифференцированных аденокарцином они выражены в большей степени и больше, чем в высоко- и умереннодифференцированных опухолях, отличаются от соответствующих показателей группы контроля.

Таблица 1

**Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/10<sup>4</sup> клеток) в ткани аденокарцином эндометрия разной степени дифференцировки (M m)**

Показатели	Контроль (n=16)	1-я группа (n=36)	2-я группа (n=17)
Г6ФДГ	2,70±0,35 p<0,01	4,18±0,31 p<0,001	9,05 ± 0,51
ГЗФДГ	26,50±2,16 p>0,05	29,83±1,69 p<0,001	69,35 ± 3,76
ЛДГ	17,48±1,63 p<0,01	23,17±1,38 p<0,05	12,98 ± 0,81
НАДИЦДГ	133,60±15,47 p<0,01	84,45±4,50 p<0,001	38,38 ± 2,18
НАДФИЦДГ	61,10±6,11 p<0,01	42,53±2,15 p<0,001	20,46 ± 1,39
НАДГДГ	21,66±2,01 p<0,001	32,95±1,69 p<0,001	66,72 ± 4,11
НАДФГДГ	4,01±0,37 p<0,001	6,51±0,39 p<0,001	15,39 ± 0,96
НАДМДГ	216,94±15,90 p<0,01	149,13±11,50 p<0,001	34,18 ± 1,93
НАДФМДГ	4,47±0,33 p<0,001	7,14±0,48 p<0,001	22,12 ± 1,79
ГР	51,81±5,21 p<0,001	72,91±3,38 p<0,001	104,77 ± 4,73

Примечание: p – достоверность различий с контролем.

Наиболее характерными особенностями реакций внутриклеточного обмена аденокарцином 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. При низкодифференцированных опухолях более высок, чем при первом патогенетическом варианте 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-пируват, о чем свидетельствуют изменения показателя активности НАДФМДГ. Указанные перераспределения субстратных потоков приобретают большую выраженность со снижением дифференцировки опухолевой ткани.

В качестве третьей, но одной из самых важных особенностей метаболизма опухолевых клеток, следует указать повышенную активность ферментов НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназ, которые катализируют реакции дополнительного поступления метаболитов аминокислотного обмена на цикл трикарбоновых кислот. Наиболее выражено это в низкодифференцированных опухолях: в них регистри-

Таблица 2

**Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/мкл) в периферической крови больных аденокарциномом и эндометрия разной степени дифференцировки (M m)**

Показатели	Контроль (n=16)	1-я группа (n=36)	2-я группа (n=17)
Г6ФДГ	1,83 0,16 p<0,05	2,29 0,17 p<0,001	4,78 0,43
ГЗФДГ	110,43 12,71 p>0,05	92,73 7,39 p<0,01	189,86 17,98
ЛДГ	11,40 0,61 p<0,001	21,83 2,17 p>0,05	14,88 1,38
НАДИЦДГ	24,79 3,20 p<0,001	8,41 0,66 p<0,001	3,10 0,22
НАДФИЦДГ	16,36 1,86 p<0,001	3,48 0,27 p<0,001	2,05 0,17
НАДГДГ	5,81 0,83 p<0,1	7,83 0,68 p<0,01	14,77 1,45
НАДФГДГ	7,86 1,08 p<0,001	14,65 1,35 p<0,001	25,64 1,52
НАДМДГ	238,95 33,51 p<0,05	159,74 17,84 p<0,001	36,72 2,81
НАДФМДГ	3,36 0,39 p<0,01	4,89 0,39 p<0,001	18,09 1,10
ГР	2,49 0,31 p>0,05	2,72 0,23 p<0,05	3,32 0,24

Примечание: p – достоверность различий с контролем.

руется весьма значительное – в 3–4 раза повышение потребления аминокислот в ЦТК.

Четвертой особенностью внутриклеточного обмена аденокарцином эндометрия, связанной со степенью их дифференцированности, можно считать разнонаправленные изменения интенсивности реакций, функционально ассоциированных с гликолизом, которые контролируются ГЗФДГ и ЛДГ.

Изучение показателей активности НАДФ-зависимых ферментов в периферической крови позволило установить, что изменения большинства этих показателей подчиняется закономерностям, установленным для тканей опухолей и зависят от степени их дифференцировки. При этом выраженность некоторых из изменений показателей крови даже более значительна, чем в аденокарциномах (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 – ГЗФДГ 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, ГЗФДГ, 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-групп). Для подавляющего большинства ферментных показателей установлено наличие высокодостоверных (не менее 99%) корреляций между их уровнем, определяемым в тканях опухолей и в периферической крови: Г6ФДГ «ткань-кровь» – 0,44; ГЗФДГ – 0,61; НАДИЦДГ – 0,56; НАДФИЦДГ – 0,37; НАДГДГ – 0,47; НАДФГДГ – 0,54; НАДМДГ – 0,53; НАДФМДГ – 0,78 при критическом значении коэффициента корреляции для  $p < 0,01$  равно 0,35. При этом указанные связи имели только положительные значения, что еще раз подтверждает отсутствие случайно выявляющихся зависимостей между анализируемыми показателями.

При аденокарциномах эндометрия показатели активности большинства метаболических ферментов крови больных изменяются по сравнению с их контрольными значениями в основ-

ном 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 обеспечения ее жизнедеятельности и избирательную стимуляцию или ингибирование некоторых реакций обмена.

### *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. Булыгин В.Г. Зависимость показателей активности ферментов в периферической крови детей г. Красноярска от уровня их здоровья // Тез. докл. итоговой научной конф. Института медицинских проблем Севера СО РАМН. – Красноярск, 1999. – С.74–75.
4. Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа. – Новосибирск, 1999. – 344с.
5. Булыгин В.Г., Аксенова Н.А., Булыгин Г.В., Тихонова Е.П., Валишевская Е.А. Ферменты крови и ткани печени детей, больных хроническим вирусным гепатитом В – Красноярск, 2001. – С.249–250.
6. Назаров И.П., Винник Ю.С., Дунаевская С.С. Иммунопатология в хирургии и анестезиологии. – Красноярск, 2003. – 279 с.
7. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И. Гистерорезектоскопия. – М.: Медицина, 1997. – 180 с.