

© Біла А. Ю., Красносельський М. В., Граматюк С. М.

УДК 612. 015. 11:616. 33-006. 6

Біла А. Ю., Красносельський М. В., Граматюк С. М.

СТАН БІОЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Академії медичних наук України»

(м. Харків)

gramatyuk@ukr.net

Робота є фрагментом комплексної ініціативної теми ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Академії медичних наук України» «Вивчення ефективності фотодинамічної терапії для лікування інфікованих променевих ушкоджень шкіри», № держ. реєстрації 0114U000058,

Вступ. Рак молочної залози (РМЗ) займає провідне місце в структурі онкопатології у жіночого населення Сполучених Штатів Америки, Австралії, Європи та України [6-8, 11, 12]. Висока чутливість РМЗ до більшості сучасних цитостатиків обумовлює широке застосування різних режимів хіміотерапії при даній патології. Для першої лінії поліхіміотерапії пухлин молочної залози найчастіше використовується комбінація циклофосфана, доксорубіцину і 5 фторурацилу (схеми CaF, FAC), що обумовлено достатньою ефективністю (60-64%) і економічною доцільністю застосування зазначеної схеми в широкій клінічній практиці [6, 7].

У патогенезі онкологічних захворювань важливу роль відіграють механізми контролю за розвитком і розповсюдженням пухлини, наслідками яких є виникнення глибоких фізико-хімічних, нейрогуморальних і ферментативних зсувів [4, 10, 14]. Проте, в багатьох випадках ці дослідження не мають кореляції з клінічними проявами захворювання [1-3, 5]. Все це диктує необхідність комплексної оцінки гомеостатичної функції організму на всіх етапах розвитку канцерогенезу з урахуванням стану окислювальних і відновлювальних процесів, що дозволяють обґрунтувати механізми формування структурно-метаболических порушень і розробити на їх основі критерії ранньої діагностики пердракових метаболічних станів.

Мета роботи – дослідити активність ферментів гліколізу, пентозофосфатного шляху та циклу Кребсу у сироватці крові хворих на рак молочної та обґрунтувати ранні діагностичні показники метаболічних порушень, що характерні для розвитку канцерогенезу.

Об'єкт і методи дослідження. У клінічному дослідженні приймали участь 127 пацієнта хворих на рак молочної залози у віці від 21 до 73 років, які перебували на лікуванні в ДУ Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Академії медичних наук України. Лабораторно-інструментальними та гістоморфологічними методами у 9 пацієнтів діагностовано стадія Tis, у 42 пацієнтів перша стадія і у 76 – друга стадія захворювання. У 62 пацієнток гістологічне дослідження встановило лобулярний рак молочної залози і у 55 – протоковий. Група порівняння була представлена

пацієнтами, що не мають онкологічної патології у віці від 25 до 65 років.

Збір матеріалу і дослідження проводилися в першу добу після госпіталізації, до оперативного втручання та патогенетичної терапії.

Для визначення активності ферментів гліколізу, пентозофосфатного шляху обміну та циклу Кребсу у сироватці крові хворих на рак молочної залози з I та II стадією, а також пацієнтів з Tis формою пухлинного процесу. Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ), малатдегідрогенази (МДГ), сукцинатдегідрогенази (СДГ) в сироватці крові на автоматичному біохімічному аналізаторі "А15" (Італія) за допомогою набору реактивів фірми "Ольвекс-Діагностікум" (Росія).

Визначення активності в еритроцитах супероксиддисмутази (СОД) проводили спектрофотометричним методом за ступенем інгібування відновлення нітросинього тетразолію [2]. Глутатіонпероксидазу (ГПО) визначали – за методом Моїна та співав. [3].

Статистичний аналіз отриманих результатів було проведено за допомогою дисперсійного аналізу, з використанням коефіцієнта Стюдента, кореляції та регресії [4].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведеного нами дослідження, було встановлено значне підвищення активності лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. В результаті дослідження активності ферментів виявлено зниження малатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази (табл.).

Лактатдегідрогеназа в сироватці крові підвищувалась від $6,4 \pm 0,42$ ммоль/год·л до $13,5 \pm 0,5$ ммоль/год·л відповідно при Tis та II стадіях пухлинного процесу при контрольних значеннях ($4,63 \pm 0,28$ ммоль/год·л).

Така динаміка підвищення активності анаеробного типу дихання вказує на значну активацію гліколізу в умовах розвитку канцерогенезу. У пацієнтів з Tis стадією спостерігається достовірне ($p \leq 0,05$) підвищення показника ЛДГ від групи умовно-здорових, цей показник можливо використовувати для ранньої діагностики раку молочної залози. У хворих з II стадією також, відмічається достовірне ($p \leq 0,05$) підвищення активності ЛДГ, що свідчить про посилення анаеробного шляху окислення глюкози та формування гіпоксичного стану.

Показники активності ферментів енергетичного обміну у хворих на рак молочної залози

Показники	Умовно-здорові (n=20)	Tis-стадія (n=9)	I-стадія (n=42)	II-стадія (n=76)
Лактатдегідрогеназа (ммоль/год·л)	4,63±0,28	6,4±0,42 ¹	9,9±0,52 ¹	13,5±0,5 ¹
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (ЕД/г Нв)	8,12±0,63	12,7±0,72 ^{1,2}	15,2±1,11 ^{1,2}	18,6±1,12 ^{1,2}
Малатдегідрогеназа (мкмоль НАД·Н ₂ /хв·л)	46,1±3,5	41,5±2,6 ^{1,2}	37,7±2,8 ^{1,2}	33,2±1,8 ^{1,2}
Сукцинатдегідрогеназа (МЕ/мл·хв)	0,311±0,010	0,282±0,012 ¹	0,251±0,008 ¹	0,205±0,007 ¹

Примітка: ¹ – різниця вірогідна p < 0,05 по відношень до умовно-здорових пацієнтів, ² – різниця достовірна між групами.

Поряд із підвищенням активності ЛДГ, у всіх групах хворих відмічалось і зростання активності – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Для розвитку пухлинного процесу необхідними є продукти та метаболіти пентозофосфатного циклу у нашому дослідженні ми спостерігали підвищення активності цього ферменту і з кожною стадією раку молочної залози. Такі зміни свідчать не тільки про порушення процесів енергетичного обміну, які протікають на фоні активації відновлювальних синтезів, що є необхідними для забезпечення росту, інвазії і метастазування пухлини, а також про посилення

гіпоксії та анаеробного гліколізу. Так показники глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності підвищувались від (8,12±0,63 ЕД/гНв) – група умовно-здорових, до (12,7±0,72; 15,2±1,11; 18,6±1,12 ЕД/г Нв) відповідно при Tis, I, II, стадіях розвитку пухлини.

Де що іншу динаміку ми спостерігали в активності ключових ферментів циклу трикарбонних кислот МДГ та СДГ. Малатдегідрогеназа є основним генератором коферментних форм НАД·Н₂ для енергетичних процесів і синтезу АТФ.

За результатами нашого дослідження активність малатдегідрогенази знижувалась (41,5±2,6; 37,7±2,8; 33,2±1,8 мкмоль НАД·Н₂/хв·л), відповідно при Tis, I, II стадіях розвитку пухлини. Достовірне пригнічення активності ферментів циклу Кребса вже при Tis стадії свідчить, перш за все, про порушення біоенергетичних та окислювально-відновлювальних процесів у хворих на рак молочної залози вже на самих ранніх етапах канцерогенезу, такі данні тісно пов'язані з розвитком тяжкості перебігу хвороби.

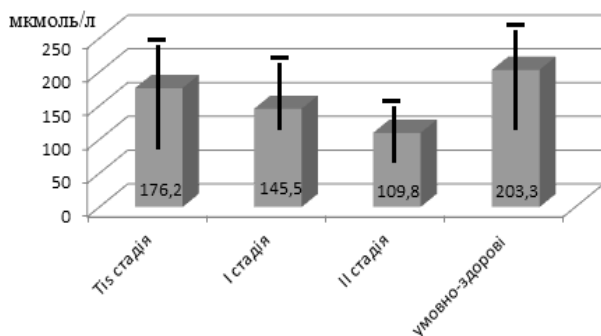
Дослідження антиоксидантної системи виявила статистично достовірне (p ≤ 0,05) зниження в усіх групах ферментів – супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, які відносяться до ферментативної ланки (рис.).

Зниження еритроцитарної супероксиддисмутази у хворих на рак молочної залози встановлено в усіх групах та має достовірну від'ємність. Так, дослідження виявили зниження СОД від 203,3±7,5 мкмоль/л – група умовно-здорових до 109,8±5,5 мкмоль/л в група пацієнтів з II стадією. СОД – фермент, що запобігає утворенню активних форм кисню та приймають участь у нерадикальному розкладі перекисів ліпідів. Значне зниження цього ферменту у пацієнтів на рак молочної залози може бути причиною підвищення дуже реакційно здатного супероксид-аніонрадикалу кисню, наслідком чого є пошкодження молекулярних компонентів клітин (білків, РНК, ДНК, мембран і ін.).

Зниження активності глутатіонпероксидази – від 9,7±0,5 до 5,9±0,43 мкмоль/л, відповідно при Tis та II стадіях пухлинного росту. Отримані данні в результаті нашого дослідження свідчать про зниження антиоксидантних процесів у хворих на рак молочної залози. Такі данні свідчать, що при розвитку раку молочної залози вже на перших етапах виникає пригнічення активності функціонування системи антиоксидантного захисту, що може виступати важливим патогенетичним фактором зниження апоптозу і розвитку канцерогенезу. Діагностичними показниками, що характеризують стан ранніх процесів канцерогенезу у організмі можуть бути активність ферментів-СОД і ГПО в еритроцитах.

Висновки. Початок розвитку раку молочної залози характеризується порушенням окислювально-відновлювальних і біоенергетичних процесів та активацією анаеробного гліколізу, пентозофосфатного

Супероксиддисмутаза



Глутатіонпероксидаза

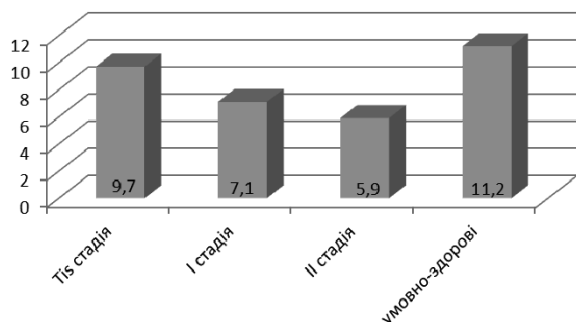


Рис. Показники активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у сироватці крові хворих на рак молочної залози.

шунта і пригніченням циклу Кребса на фоні розвитку тканинної гіпоксії. Пригнічення ферментативної і не ферментативної ланки системи анти радикального збільшується в залежності від стадії процесу. Підвищення активності біоенергетичних процесів та антирадикального захисту є першочерговою задачею

патогенетичної терапії у хворих з ранніми стадіями канцерогенезу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшій роботі планується дослідження жиро- та водорозчинних вітамінів, а також їх значення в розвитку канцерогенезу.

Література

1. Гуревич В. С. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы / В. С. Гуревич, К. Н. Конторицинова // Лаб. дело. – 1990 – №4. – С. 44-47.
2. Заридзе Д. Е. Эпидемиология и профилактика рака / Д. Е. Заридзе // Вести РАМН. – 2001. – №9. – С. 6-14.
3. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. – 1989. – №2. – С. 724-727.
4. Стентон Г. Медико-биологическая статистика / Г. Стентон; [пер. с англ.] – М. : Практика, 1998. – 459 с.
5. Тищенко Л. Д. Методы исследования функций организма в онтогенезе / Л. Д. Тищенко, Е. М. Рахмалевич. – М. : АПН СССР, 1975. – С. 160-169.
6. Andrade S. P. Inhibitors of nitric oxide synthase selectively reduce flow in tumor-associated neovasculature / S. P. Andrade, I. R. Hart, P. J. Piper // Br. J. Pharmacology. – 1992. – Vol. 107. – P. 1092-1095.
7. Arthur J. R. The glutathione peroxidases / J. R. Arthur // Cell. Mol. Life Sci. – 2000. – Vol. 57. – P. 1825-1835.
8. Dayal S. Deficiency of glutathione peroxidase-1 sensitizes hyperhomocysteinemic mice to endothelial dysfunction / S. Dayal, K. I. Brown, C. J. Weydert // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2002. – Vol. 22. – P. 1996-2002.
9. Lambert E. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 signaling pathway leading to erythroid cell survival / E. Lambert, C. Boudot, Z. Kadri, M. Soula-Rothhut // Biochem. J. – 2003. – Vol. 372. – P. 767-774.
10. Lis S. FAK expression regulation and therapeutic potential / S. Lis, Z. C. Hua // Adv. Cancer Res. – 2008. – Vol. 101. – P. 45-61.
11. Hornberg J. J. Cancer: A systems biology disease / J. J. Hornberg, F. J. Brugemann, H. V. Westerhoff, J. Lankela // Bio Centrum. – 2005. – P. 1-10.
12. O'Shea J. J. JAKs and STATs in Immunity, Immunodeficiency, and Cancer / J. J. O'Shea, M. M. Holland, L. M. Straud // N. Engl. J. Med. – 2013. – №368. – P. 161-170.
13. Tamósi V. Role of xenobiotic metabolism in cancer: involvement of transcriptional and miRNA regulation of P450s / V. Tamósi, K. Monostory, R. A. Prough, A. Falus // Cell. Mol. Life Sci. – 2011. – Vol. 68, №76. – P. 113-1146.
14. Zhao J. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer / J. Zhao, J. L. Guan // Cancer Met. Rev. – 2009. – Vol. 28. – P. 35-49.
15. Zhou X. Activation of the Akt/mammalian target of rapamycin/4E-BP1 pathway by ErbB2 overexpression predicts tumor progression in breast cancers / X. Zhou, M. Tan, V. Stone Hawthorne, K. S. Klos, K. H. Lan // Clin. Cancer Res. – 2004. – Vol. 10. – P. 6779-88.

УДК 612.015.11:616.33-006.6

СТАН БІОЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ТА ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Біла А. Ю., Красносельський М. В., Граматюк С. М.

Резюме. Досліджено стан біоенергетичного обміну та окислювально-відновлювальних синтезів у хворих на рак молочної залози та обґрунтовано діагностичні показники ранніх порушень, характерних для розвитку патології. В результаті дослідження встановлено достовірне ($p \leq 0,05$) підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази до ($18,6 \pm 1,12$ ЕД/г Нв) при II стадії та лактатдегідрогенази на тлі зниження малатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, що вказує на зміни в функціонуванні гліколізу, пентозофосфатному шунті і циклі Кребса.

Аналіз показав, що у хворих на рак молочної залози вже при Tis та першій стадії розвитку пухлинного процесу, показники біоенергетичного обміну в усіх випадках були знижені більше ніж в 2 рази. Це дає змогу стверджувати, що онкопатологія молочної залози формується на фоні серйозної метаболічної дисфункції та біоенергетичних зсувів.

Ключові слова: рак молочної залози, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа.

УДК 612.015.11:616.33-006.6

СОСТОЯНИЕ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА И ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Белая А. Ю., Красносельский Н. В., Граматюк С. Н.

Резюме. Исследовано состояние биоэнергетического обмена и окислительно-восстановительных синтезов у больных раком молочной железы и обоснованно диагностические показатели ранних нарушений, характерных для развития онкопатологии у данных пациентов. В результате исследования установлено достоверное ($p \leq 0,05$) повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы до ($18,6 \pm 1,12$ ЕД/гНв) при II стадии и лактатдегидрогеназы на фоне снижения малатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы, что указывает на изменения в функционировании цикла Кребса, гликолиза и пентозофосфатного шунта.

Анализ показал, что у больных раком молочной железы уже при Tis и первой стадии развития опухолевого процесса, показатели биоэнергетического обмена во всех случаях были снижены более чем в 2 раза. Это позволяет утверждать, что онкопатология молочной железы формируется на фоне серьезной метаболической дисфункции и биоэнергетических нарушений.

Ключевые слова: рак молочной железы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа.

UDC 612. 015. 11:616. 33-006. 6

The State of Bioenergy Metabolism and Antioxidant Enzymes in Patients with Breast Cancer

Bila H. J., Krasnoselskii N. V., Gramatiuk S. M.

Abstract. The state of bioenergy metabolism and redox synthesis in breast cancer patients and reasonable diagnostic indicators of early disorders specific to the development of cancer pathology in these patients.

In the pathogenesis of cancer are important mechanisms to monitor the development and spread of the tumor, the consequences of which is the emergence of profound physical, chemical, and enzymatic neuro-hormonal shifts. However, in many cases, these studies have no correlation with clinical manifestations of the disease. All this dictates the need for a comprehensive evaluation of homeostatic body functions at all stages of carcinogenesis based on the state of oxidation and reduction processes that will justify the mechanisms of structural and metabolic disorders and to develop criteria based on them early diagnosis of precancerous metabolic states.

Aim. To investigate the activity of the enzyme of glycolysis, pentose phosphate pathway and the Krebs cycle in the serum of patients with breast and justify early diagnostic indicators of metabolic disorders that are characteristic of cancer-genesis.

Materials and methods. In a clinical study participated 127 patients with breast cancer at the age of 21 to 73 years who were treated at the RC Institute of Medical Radiology. SP Grigorieva Academy of Medical Sciences of Ukraine. Laboratory and instrumental methods and histo-morphological in 9 patients diagnosed with stage Tis, 42 patients in the first stage and 76 – the second stage of the disease. In 62 patients histological study found lobular breast cancer and in 55 – ductal. A comparison group was represented by patients who do not have cancer pathology aged 25 to 65 years.

Collection of material and research conducted in the first days after hospitalization for surgery and pathogenesis' therapy. The determine the activity of enzymes of glycolysis, pentose phosphate pathway and the Krebs cycle metabolism in serum of patients with breast cancer stage I and II, as well as patients with Tis form of cancer. The activity of lactate dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-FDG), malate dehydrogenase (MDH), succinate dehydrogenase (SDG) in serum on automatic biochemical analyzer "A15" (Italy) with a set of reagents of "Olveks-Diahnostikum "(Russia).

Determination of erythrocyte superoxide dismutase (SOD) spectro-photometric method performed by the degree of inhibition nitro-tetrazolium recovery. Glutathione peroxides' (GPO) was determined – the method Moina and sang.

Statistical analysis of the results was conducted using analysis of variance, using Student's coefficient, correlation and regression.

Result and Discussion. The study showed a significant ($p \leq 0,05$) increase in the activity of glucose-6-phosphate to ($18,6 \pm 1,12$ U / GNF) in stage II and against decrease in lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase succinate, indicating a change in the functioning of Krebs cycle, glycolysis and the pentose phosphate shunt.

Reduced activity of glutathione peroxidase – from $9,7 \pm 0,5$ to $5,9 \pm 0,43$ mmol / L, respectively, at Tis and II stages of tumor growth. Data obtained as a result of our study show a decrease antioxidant processes in patients with breast cancer. These data indicate that the development of breast cancer are in the early stages there is suppression of the system of antioxidant protection that can serve an important pathogenesis factor in reducing apoptosis and carcinogenesis development. Diagnostic indicators of the state of the early processes of carcinogenesis in the body may be the activity of enzymes SOD and GPO-in erythrocytes.

The analysis showed that in patients with breast cancer already at Tis and the first stage of the tumor process, indicators bioenergetic exchange in all cases have been reduced by more than 2 times. This suggests that breast onco-pathology formed on the background of a serious metabolic dysfunction and disorders of bioenergy.

Keywords: breast cancer, glucose-6-phosphate, lactate.

Рецензент – проф. Баштан В. М.

Стаття надійшла 03. 04. 2015 р.