

УДК 577.323-008+616.33-002.44-018.25-037

© Коллектив авторов, 2012.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ТЕЧЕНИИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ У ЧЕЛОВЕКА

Б.Г. Борзенко, Е.М. Бакурова, К.А. Миронова, Я.Г. Жебеленко, Е.В. Богатырева

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, кафедра химии (зав. – проф. А.Г. Матвиенко), г. Донецк.

PATHOGENETIC FEATURES OF BLOOD CELLS METABOLISM IN DIFFERENT PROCESS OF HUMAN ULCEROUS DISEASE

B.G. Borzenko, E.M. Bakurova, K.O. Myronova, Ya.G. Zhebelenko, O.V. Bagatyrova

SUMMARY

Comparative activity of DNA precursor's metabolism enzymes (TK, TP, ADA) was studied in blood serum, lymphocytes and platelets of healthy people and patients with ulcer disease and gastric cancer. TK and ADA activity in blood serum was revealed in patients with ulcer disease and gastric cancer. Unfortunately, decreased ADA activity in lymphocytes is accompanied by a decrease in their functional deficiency and immune system decline. Increased activity of this enzyme in platelets contributes to the formation of aggregates, promoting ischemia of the gastric mucosa. Interestingly, TP activity is within normal range in younger patients (aged fewer than 40) with ulcer disease while sharply decreases after 46-60 years similarly as in patients of the same age with stomach cancer. In light of this study, we could assume that similar changes in enzyme activity both in patients with ulcer disease and gastric cancer aged 46-60 years can contribute to ulcer malignation and are a factor of oncological risk.

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ КЛІТИН КРОВІ ПРИ РІЗНОМУ ПЕРЕБІГУ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ У ЛЮДИНИ

Б.Г. Борзенко, О.М. Бакурова, К.О. Миронова, Я.Г. Жебеленко, О.В. Богатирьова

РЕЗЮМЕ

Вивчено порівняльну активність ферментів метаболізму попередників ДНК: ТК, ТФ, АДА у сироватці крові, лімфоцитах і тромбоцитах здорових людей і хворих на ВХ та РШ різного віку. Активність ТФ при ВХ знаходиться у межах норми у хворих у віці до 40 років, а далі різко знижується, як у всіх пацієнтів при РШ. Виявлено підвищення активності ТК, АДА в сироватці крові при ВХ та РШ. Активність АДА знижена в лімфоцитах, що супроводжується зниженням їх функціональної готовності. Підвищення цього фермента в тромбоцитах сприяє утворенню їх агрегатів, посилюючих ішемію слизової оболонки шлунка або навпаки зміна активності ферментів при ВХ у хворих у віці 46-60 років, подібно зміні при РШ, може сприяти малігнізації виразки.

Ключевые слова: активность ферментов метаболизма предшественников ДНК, сыворотка, клетки крови, язвенная болезнь, рак желудка.

Одним из наиболее распространенных заболеваний органов пищеварения, является язвенная болезнь, составляющая до 30% от всей гастроэнтерологической патологии. Частота малигнизации при этом заболевании сравнительно невелика – от 5 до 12 %. Однако многочисленные исследования, проводимые на протяжении ряда лет, позволили авторам сделать вывод о необходимости рассматривать доброкачественную язву желудка как поражение с высоким риском озлокачествления [4, 8], требующее особого профилактического обследования больных. Это подтверждается данными, полученными при выполнении резекции по поводу рака желудка (РЖ) у 762 больных (в течение 16 лет). У больных преобладали типичные клинические симптомы язвенной болезни [3]. Следовательно, существует насущная необходимость в определении биохимических маркеров, которые могли бы использоваться при ранней и дифференциальной диагностике опухолей желудочно-кишечного тракта у человека.

Одним из направлений поиска таких показателей является исследование активности ключевых ферментов метаболизма нуклеиновых кислот (НК), обмен которых тесно связан с клеточной пролиферацией [10]. Особый интерес представляют ферменты метаболизма пиридиновых и пуриновых предшественников ДНК. Ключевые ферменты метаболизма ТМФ – маркерного пиримидинового нуклеотида: тимидинкиназа (ТК) и тимидинфосфорилаза (ТФ). Активность ТК максимальна в S-фазе клеточного цикла и в логарифмической фазе роста клеток, она прямо коррелирует со скоростью синтеза ДНК и была названа маркером клеточной пролиферации [9].

Фермент тимидинфосфорилаза, влияющий на включение тимидина в ТМФ, обладает и второй функцией. В 1992 году было установлено, что первичная структура ТФ и известного фактора ангиогенеза – белка PD ECGF, аналогичны. Таким образом, ТФ/PD ECGF является и ферментом и фактором ангиогенеза [7].

Не менее важным показателем, определяющим скорость репликации ДНК является метаболизм ее пуринового предшественника – аденозина. Активность аденозиндезаминазы (АДА), регулирующей этот процесс имеет важное значение также для поддержания нормальной функции иммунной системы человека [2].

Таким образом, сравнительная активность ферментов обмена пиримидинов и пуринов может, в определенной степени, отражать интенсивность пролиферативных процессов и иммунокомпетентность организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служила сыворотка крови 30 больных ЯБ в возрасте от 23 до 80 лет. Группу больных составили лица с локализацией язвенного дефекта в антральном отделе желудка и луковице двенадцатиперстной кишки. Исследования ферментативной активности проводили в период обострения болезни. Обследовано 45 больных РЖ того же возраста. В качестве контроля использовали сыворотку крови 40 условно здоровых лиц того же возраста, не имевших патологии гастродуоденальной зоны. Активность ТК определяли по стандартному методу [1] в некоторой модификации, используя в качестве субстрата ^{14}C -тимидин (Россия). Радиоактивность дисков диэтил-амино-этилцеллюлозной бумаги (Лимбро, Великобритания) подсчитывали в сцинтилляционной жидкости СОЖ-8 на счетчике биологическом сцинтилляционном (СБС-2). Активность ТК выражали в наномолях тимидинфосфата, образованного за 1 час в пересчете на 1 мг сывороточного белка.

Активность ТФ определяли спектрофотометрически [1] на СФ-46 (Ломо, Россия)

при 300 нм по изменению оптической плотности тимиана в 0,01 н NaOH. Активность выражали в наномолях тимиана, образованного за 1 минуту в расчете на 1 мг белка. Активность АДА определяли по изменению оптической плотности реакционной смеси при 265 нм на СФ – 46, обусловленному дезаминированием аденозина до инозина. Удельную активность выражали в наномолях аденозина, превращенного за 1 минуту в расчете на 1 мг белка [1]. Концентрацию белка определяли методом Лоури. Статистическую обработку результатов проводили с использованием параметрических и непараметрических методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами была установлена прямая корреляция активности ТК и ТФ в тканях и сыворотке крови здоровых людей и онкологических больных [1]. При анализе активности исследуемых ферментов в сыворотке крови у здоровых людей, было установлено, что активность ТК несколько увеличивается после 35 лет, максимально в возрастной группе 46-60 лет и составляет $3,87 \pm 0,71$ нмоль/час/мг. Активность ТФ практически не изменяется с 23 до 60 лет.

У больных язвенной болезнью обнаружено достоверное в 1,8 раза увеличение ТК в возрасте 23-45 лет – $3,79 \pm 0,82$ нмоль/мин/мг. Активность ТФ у больных язвенной болезнью достоверно снижено после 35 лет и составляет после 46 лет $0,13 \pm 0,02$ у.е. Т.е. увеличение активности ТК при язвенной болезни происходит на фоне достаточно активной ТФ у пациентов 23-45 лет, что возможно, контролирует интенсивность включения тимидина в ТМФ, а значит и пролиферативный процесс. В более старших возрастных группах, активность ТФ – снижается.

Таблица 1

Активность ферментов метаболизма тимидина в сыворотке крови здоровых людей и больных язвенной болезнью и раком желудка

Возраст (лет)	Тимидинкиназа (нмоль/час/мг)			Тимидинфосфорилаза (у.е.)		
	Здоровые люди	Больные язвенной болезнью	Онкологические больные	Здоровые люди	Больные язвенной болезнью	Онкологические больные
23-35	$1,95 \pm 0,05$	$3,79 \pm 0,82$	-	$0,36 \pm 0,15$	$0,25 \pm 0,06$	-
36-45	$2,96 \pm 0,51$	$3,54 \pm 0,85$	$5,98 \pm 1,10^*$	$0,41 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,02^*$	$0,31 \pm 0,06$
46-60	$3,87 \pm 0,71$	$3,19 \pm 0,28$	$6,38 \pm 0,98^*$	$0,47 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,02^{**}$	$0,14 \pm 0,05^{**}$

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$ относительно контрольной группы.

Активность АДА одновременно исследовалась в сыворотке крови, лимфоцитах и тромбоцитах здоровых людей и при патологии.

Установлено достоверное увеличение (2-3 раза) активности фермента в сыворотке крови больных язвой желудка всех возрастных групп. Наиболее активна АДА у больных в возрасте 46-60 лет – $4,88 \pm 0,63$ нмоль/мин/мг (норма $1,71 \pm 0,15$ нмоль/мин/

мг). Одновременно с повышением АДА в сыворотке крови установлено ее снижение в лимфоцитах, что может снижать их функциональную готовность.

При определении активности этого фермента в тромбоцитах выявлено его достоверное увеличение в организме больных ЯБ и РЖ. Интенсивное дезаминирование аденозина, которое при этом наблюдается, увеличивает способность тромбоцитов

Таблица 2

Активность аденозиндезаминазы в сыворотке и лимфоцитах и показатели функциональной готовности лимфоцитов у больных раком желудка различного возраста

Возраст (лет)	Аденозиндезаминаза (нмоль/мин/мг) в сыворотке		Аденозиндезаминаза в лимфоцитах (нмоль/час/10 ⁶)		Т-лимфоциты (абс. число)		В-лимфоциты (абс. число)		Индекс стимуляции лимфоцитов	
	Здоровые люди	Больные РЖ	Здоровые люди	Больные РЖ	Здоровые люди	Больные РЖ	Здоровые люди	Больные РЖ	Здоровые люди	Больные РЖ
36-45	2,51±0,37	6,91±0,49**	172,94±2,05	73,93±1,60**	915,00±3,17	802,31±25,98*	292,00±20,15	200,08±15,05*	79,02±5,12	24,40±2,70*
46-60	1,71±0,15	7,42±1,64**	165,99±2,04	58,4±3,07*	-	699,20±51,50	-	182,37±7,12	65,44±2,40	16,38±2,33**

Примечание: * - p<0,05, ** - p<0,001 относительно контрольной группы.

Таблица 3

Активность ферментов метаболизма аденозина в плазме богатой тромбоцитами (ПБТ) и безтромбоцитарной плазме здоровых людей, больных язвенной болезнью и раком желудка

Возраст (лет)	Аденозиндезаминаза ПБТ (нмоль/мин/мг)		
	Здоровые люди	Больные язвенной болезнью	Онкологические больные
20-29	2,11±0,31	2,92±0,33	-
40-49	2,18±0,23	4,06±0,64	6,25±0,58**
50-59	2,09±0,25	4,29±0,51*	6,46±0,57**
60-69	2,21±0,26	4,07±0,47*	6,53±1,19**
Аденозиндезаминаза безтромбоцитарной плазмы (нмоль/мин/мг)			
20-29	4,42±0,53	6,86±0,82	-
40-49	5,04±0,59	8,28±1,27	14,54±1,87**
50-59	5,35±0,51	8,33±1,23	17,42±2,12**
60-69	6,21±0,67	8,94±2,17*	16,91±2,19**

Примечание: * - p<0,05, ** - p<0,001 относительно контрольной группы.

к агрегации [6], а образующиеся при этом тромбоцитарные агрегаты усиливают ишемию слизистой.

У больных раком желудка T₃N₁M₀ активность ТК достоверно увеличивалась во всех возрастных группах, на фоне резко сниженной активности ТФ. Максимальное увеличение активности ТК – в 2 раза, при сниженной в 3 раза ТФ наблюдается у больных раком желудка 46-60 лет: ТК – 6,38±0,98 нмоль/мин/мг, (норма 3,19±0,27), ТФ – 0,13±0,02 нмоль/мин/мг (норма 0,47±0,05) (табл.1).

Активность АДА в сыворотке крови онкологических больных повышена (табл.2), а в лимфоцитах снижена. Угнетение дезаминирования аденозина в лимфоцитах и его накопление снижает функциональную готовность Т- и В-лимфоцитов, что подтверждается иммунологическими исследованиями и хорошо согласуется с данными литературы. В тромбоцитах установлено увеличение АДА у больных раком желудка различного возраста

(табл.3). Это создает условия для агрегации тромбоцитов, повышается их активность и чувствительность к прокоагулянтным факторам [6], вызывает нарушение микроциркуляции, что повышает вероятность метастазирования.

ВЫВОДЫ

Таким образом, изменение активности ТК, ТФ, АДА в сыворотке и клетках крови больных язвенной болезнью и раком желудка имеет возрастной характер, а однонаправленность изменения их активности у пациентов может быть одной из причин малигнизации язвы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перспективи застосування ферментативних тестів при хіміотерапії раку шлунка/ Б.Г. Борзенко, О.М. Бакурова, К.О. Миронова [и др.] // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2011. – вип. 3 (42). – С. 19-23.

2. Сравнительная оценка влияния радиации,

гипотиреоза и ртутной интоксикации на активность ферментов обмена пуриновых нуклеотидов, антиоксидантной системы и иммунный статус / Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С., Прозор И.И., Олжаева Р.Р. // Российская Академия Естествознания. Научно-теоретический журнал «Успехи современного естествознания» - 2009. - № 6 - С. 1-5.

3. Carmen Avendano J. Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs / Carmen Avendano, J. Carlos Menendez. Elsevier // 2008. - 442 p.

4. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in The Netherlands/ de Vries A.C., van Grieken N.C., Looman C.W. [et al.] // Gastroenterology. - 2008. - Vol. 134. - P. 945-952.

5. Platelet release of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in patients undergoing chemotherapy for breast cancer / C. Kirwan, G. Byrne, S. Kumar, G. Mc. Dowell // Journal of Angiogenesis Research. - 2009. - Vol. 1, № 7. - P. 1186-1195.

6. Platelet Activation a Link Between Angiogenesis and Haemostasis in Bladder Cancer Patients / B. S.

Madkour, L. W. Bekheet, I. A. Khaled [et al.] // «Research Journal of Medicine and Medical Sciences», - 2009. - Т, 4(2). - P. 212-219.

7. Targeting platelet-derived endothelial cell growth factor/Thymidine phosphorylase for cancer therapy / Liekens S, Bronckaers A., Pйrez-Pйrez M.J., Balzarini J. / Biochem. Pharmacol. - 2007. - Dec 3;74 (11). - P.1555-1567.

8. The prevalence of premalignant gastric lesions in asymptomatic patients: Predicting the future incidence of gastric cancer/ Hoed C.M., Eijck B.C., Capelle L.G. [et al.] // European Journal of Cancer. - 2011, - Vol. 47, Issue 8, - P. 1211-1218.

9. Thymidine Kinase 1 and Thymidine Phosphorylase Expression in Non-Small-cell Lung Carcinoma in Relation to Angiogenesis and Proliferation / Brockenbrough J. S., Morihara J.K., Hawes S.E. [et al.] / J. Histochem. Cytochem. - 2009. - November; 57(11) - P.1087-1097.

10. Walter Sandritter. DNA content of tumours. Cytophotometric measurements/ Walter Sandritter// EJC. - 2004, - Vol. 40, №13 - P.1941-1944.