

УДК 577.15 : [616-002.44 + 616.33-006.6]- 053.008

© Коллектив авторов, 2012.

НЕКОТОРЫЕ ПАТОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Е.М. Бакурова, К.А. Миронова, С.А. Зуйков, О.А. Верхова

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

THE DYSMETABOLIC PROCESSES AT ERYTHROCYTES AS A REASON OF DEVELOPMENT OF HEMIC HYPOXIA
E.M. Bakurova, K.A. Mironova, S. A. Zuikov, O.A. Verchova

SUMMARY

The development of tissue hypoxia is a pathogenic factor of stomach cancer. It can be conditioned by disorder of gas-transport function of red cells. Erythrocytes dysfunction can be caused by their dysmetabolic processes. At this study we revealed that erythrocytes dysfunction may be due to hyperproduction of nitrogen oxide and oxygen active forms, increased activities of glycolytic enzymes and decreased activities of glutathione peroxidase, glucose-6-phosphate dehydrogenase.

ДЕЯКІ ПАТОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ У ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА
О.М. Бакурова, К.О. Миронова, С.О. Зуйков, О.О. Верхова

РЕЗЮМЕ

Розвиток тканинної гіпоксії – фактора патогенезу раку шлунку, може бути обумовлений порушенням газопостачальної функції еритроцитів. Їх дисметаболическі процеси - підвищення продукції активних форм кисню, оксиду азоту, зниження активності глутатіонпероксидази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, підвищення активності гліколітичних ферментів – гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази і лактатдегідрогенази, можуть безпосередньо впливати на порушення транспорту кисню в тканині.

Ключевые слова: эритроцит, ферменты, гипоксия, рак желудка.

Одной из актуальных проблем здравоохранения является проблема повышения эффективности лечения злокачественных новообразований. Это не локальная проблема одной страны, а глобальная проблема человечества. Наряду с хирургическим методом активно используются химио- и лучевая терапия. Однако, как известно, низкая радиочувствительность опухоли, ее химиорезистентность могут значительно ухудшить прогноз заболевания. Существенный вклад в развитие этих эффектов вносят биологические и патохимические особенности опухоли. Это может быть связано с особенностями ее оксигенации, различиями в структурной организации плазматических мембран опухолевых клеток - различной конформацией белковых, липидных молекул, содержанием холестерина, сфингомиелина, гликофинголипидов в так называемых мембранных ямках, с гиперэкспрессией транспортных АТФ-аз, лимитирующих проникновение в клетки иногда даже нескольких препаратов, что обозначают как феномен множественной лекарственной устойчивости. Кроме этого, снижение содержания полиненасыщенных жирных кислот, вплоть до полного отсутствия, обеспечивает устойчивость к повреждающему действию активных форм кислорода и свободных радикалов. Развитие данных патофизиологических особенностей растущей опухоли может быть обусловлено дисциркуляторными процессами и эритроцитарной дисфункцией [1, 2]. Цель работы – определить и сопоставить активность ферментов

гликолиза, системы глутатиона, уровень продуктов обмена оксида азота в эритроцитах больных раком желудка. Это поможет уточнить некоторые патогенетические особенности развития гемической гипоксии у данных больных. Роль гликолиза уникальна для процессов жизнедеятельности и газотранспортной функции эритроцитов. Он – монополист, поставляющий не только АТФ, но и 1,3-бисфосфоглицерат (для продукции 2,3-бисфосфоглицерата - регулятора транспорта кислорода от оксигемоглобина эритроцита в ткани). Также происходит восполнение НАДН₂, необходимого для метгемоглобинредуктазы. Уровень нефункционального метгемоглобина регулируется также и глутатионпероксидазой (ГПО), обезвреживающей также одну из более долгоживущих форм активных форм кислорода (АФК) – перекись водорода (H₂O₂) [5]. Единственным поставщиком ее кофермента в эритроците является пентозофосфатный путь, при этом интермедиатами гликолиза являются его промежуточные продукты, т.ч. и глицеральдегид-3-фосфат. Регуляторный фермент процесса – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование особенностей метаболизма проводили в гемолизате эритроцитов, для получения которого эритроциты трижды отмывали в 0,9% р-ре NaOH, центрифугировали взвесь по 3 мин при 1500 г, для получения гемолизата отбирали 0,1 мл взвеси.

В контрольную группу вошли 33 человека, не имевших онкопатологии. Группу больных составили 35 пациентов с клинически и инструментально подтвержденным опухолевым процессом в желудке на T₃₋₄N_{1-x}M_{0-x} стадиях. Средний возраст в основной и группе сравнения составил 45-65 лет. Активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФДГ) определяли спектрофотометрически, используя фруктозоdifосфат [7], лактатдегидрогеназы – по убыли НАДН₂ [3]. Активность ГПО оценивали по изменению содержания восстановленного глутатиона до и после инкубации с модельным субстратом. Содержание глутатиона оценивали,

определяя окрашенные в желтый цвет его производные соединения с ДТНБК (2-нитро-5-тиобензоатом) [7]. Уровень оксида азота в форме нитрит-аниона (NO₂⁻) после энзиматического восстановления нитратов в нитриты определяли с помощью классической реакции Грисса [4]. Концентрацию белка определяли методом Лоури [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В эритроцитах больных раком желудка повышена активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – ферментов гликолитического расщепления глюкозы (p<0,05) (см. табл 1).

Таблица 1

Активность ферментов гликолиза и обмена глутатиона в эритроцитах больных раком желудка, нмоль/мин мг

Диагноз	ГАФДГ	ЛДГ	ГПО	Г6ФДГ
Контроль(n = 33)	5,35±0,31	3,28± 0,51	1,45 ± 0,06	0,42 ± 0,04
РЖ (n = 35)	6,12±0,02 *	5,99± 0,84*	0,83 ± 0,31*	0,24 ± 0,05**

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01 по сравнению с контролем.

Это связано с преимущественным потреблением гликолитических фосфометаболитов в процессах энергопродукции [2], т.е. гликолитическом синтезе АТФ. К тому же, может свидетельствовать о повышении потребности клетки в 2,3-бисфосфоглицерате, который обеспечивает процесс передачи кислорода в тканях, а также НАДН₂ - для метгемоглобинредуктазной реакции. Конверсии форм гемоглобина в нефункциональный метгемоглобин способствует установленное снижение активности ГПО и Г6ФДГ (см. табл. 1). Кроме того, низкая по сравнению с контролем активность ГПО приведет к повышению уровня перекиси водорода (H₂O₂), являющейся одной из долгоживущих активных форм кислорода (АФК). Это также может ухудшить функцию транспорта газов крови гемоглобином (Hb) из-за его окислительной модификации [4].

В настоящее время известно о роли оксида азота (NO) в регуляции транспорта газов гемоглобином [6]. Так дыхательные гемопротеины, т.ч. гемоглобин, связывающие свободный NO, играют скевенджерную роль в обмене этого короткоживущего регулятора ряда физиологических процессов. В связывании NO участвуют б-цепи Hb. Происходящие при этом структурные изменения, меняют его сродство к кислороду [6]. В частности, при снижении значений pO₂, наличие оксида азота в составе комплекса с оксигемоглобином (окси-Hbα-NO) облегчает передачу кислорода тканям. Физиологически важным является усиление действия окси-Hbβ-NO комплекса на процесс отщепления кислорода от молекулы гемоглобина становится в периферических участках кровотока, где pO₂ ниже.

Нами установлено повышение уровня нитрозилированных продуктов обмена NO, которые непосредственно отражают интенсивность процессов синтеза этого газа, от 2,07±0,44 до 3,84±0,96 мкмоль/л у больных РЖ (см. рис. 1). Избыточное образование NO может иметь место в организме больных опухолевыми процессами различной локализации из-за активации экспрессии генов индуцибельной NO-синтазы (iNOS) [6]. Кроме макрофагов, как известно ее способны экспрессировать аденокарциномы, являющиеся наиболее распространенными патоморфологическими формами рака желудка. При этом отмечается, что эта изоформа генерирует во много раз большее количество оксида азота, чем конститутивные формы изофермента.

Избыточное образование NO в организме онкобольных, который способен проникать через эритроцитарную мембрану, может привести к нитрозилированию β-цепей Hb по аминокислотным остаткам цистеина и тирозина. Установлено, что при этом значительно повышается сродство гемоглобина к кислороду и происходит одновременное накопление метгемоглобина.

В ходе исследования было обнаружено, что у больных раком желудка усиливается интенсивность гликолиза, снижается активность антиоксидантной системы глутатиона, создаются условия для накопления АФК и оксида азота. Можно предположить, что при этом нарастают уровни функционально измененных форм гемоглобина - как метгемоглобина, так и нитрозилированных по в-цепям Hb и/или окислительно модифицированных. Таким образом, выявленные нами патохимические

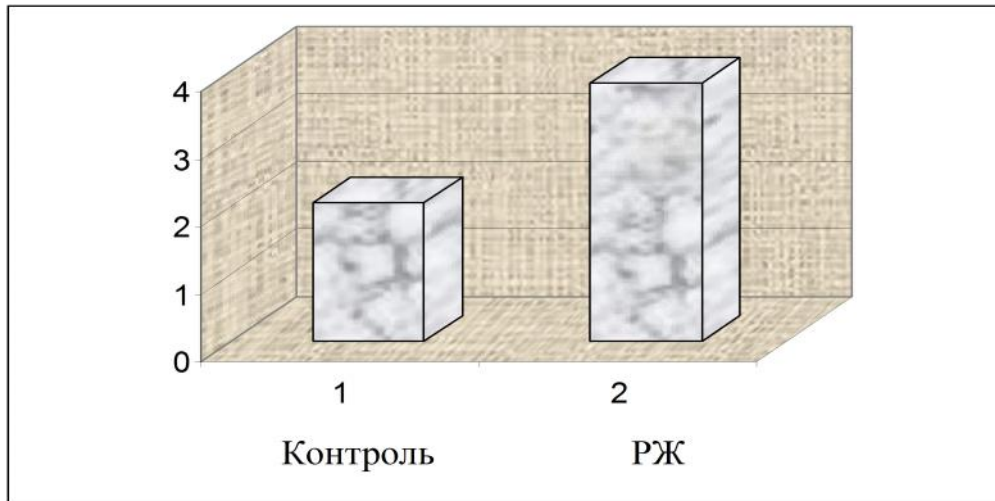


Рис. 1. Содержание метаболитов оксида азота в эритроцитах, ммоль/л.

изменения в обмене эритроцитов у больных раком желудка, могут способствовать ухудшению микроциркуляции и развитию гемической гипоксии у таких больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакурова О.М. Порухення обміну клітин крові при раці шлунка /Бакурова О.М., Борзенко Б.Г., Миронова К.О.// Перспективи медицини та біології – 2011. – Т.3, № 1 (додаток) – С.45–46.
2. Бакурова Е.М. Співвідношення між змінами метаболізму еритроцитів та порушеннями мікроциркуляції при деяких патологічних станах організму / Бакурова Е.М., Федорова А.А, Борзенко Б.Г // Укр. Мед. Альманах – 2009. – Т.12, № 2 (додаток) – С. 13–14.
3. Вивчення взаємозв'язків між особливостями метаболізму еритроцитів та перебігом патологічних процесів / Бакурова О.М., Борзенко Б.Г., Богатирьова О.В., Турсунова Ю.Д. // Проблеми військової охорони здоров'я. Зб. наук. пр. – Вип. 23, за ред. проф.В.Я. Білого. – Київ, 2008. – С. 36–43.
4. Зуйков С.А. Изменение соотношения прооксидантной и антиоксидантной систем при опухолях желудка// Питання експериментальної та клінічної медицини Зб. наук. пр. – 2012. - Вип. 16, Т. 1.- 255–260.
5. Коржов В.И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты / Коржов В.И., Жадан В.Н., Коржов М.В // Журн. АМНУ. – 2007. – Т.13, № 1. – С. 3–19.
6. Осипов А.Н. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов/ Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А.// Успехи биол. химии. - 2007. – Т.47. – С. 259–292.
7. Особенности системы антирадикальной защиты и углеводный обмен эритроцитов у больных язвенной болезнью / Борзенко Б.Г., Жебеленко Я.Г., Зуйков С.О. [и др.]// Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т.5, № 3. – С.186–189.