

МЕТАБОЛИЗМ КИСЛОРОДА В ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЯИЧНИКОВ¹

© 2005 И.И. Антонеева,² Т.П. Генинг³

В статье представлен сравнительный анализ активности мембраносвязанных митохондриальных ферментов (сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы) в опухолевой ткани больных с раком яичников в зависимости от клинической стадии заболевания. Показано снижение активности ферментов в опухолевой ткани по сравнению с активностью в ткани внешне нормальных яичников. Степень снижения активности ферментов коррелировала с опухолевой прогрессией.

Введение

Еще в 1926г. Warburg [1] предположил существование так называемого "ракового обмена". Сравнивая высокозлокачественные клетки с нормальными тканями, интенсивно поглощающими кислород, он заключил, что отличительными чертами обмена опухолевых клеток являются высокий уровень гликолиза, низкий уровень дыхания и ослабленный эффект Пастера (подавление гликолиза дыханием). При этом он полагал, что малигнизация нормальной ткани протекает в 2 стадии: а) необратимое повреждение дыхания клетки; в) возникновение у клеток с поврежденным дыханием повышенной способности к гликолизу, который призван восполнить энергетическую неполноценность дыхания. И далее возникает уже новый тип клеток с высоким анаэробным гликолизом [2]. В пользу этой гипотезы свидетельствовали данные Aisenberg [3] о пониженном содержании в раковых клетках цитохрома С, цитохромоксидазы (ЦХО) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ), а также результаты исследований Goldblatt [4], который показал усиление малигнизации клеток в культуре путем создания условий, близких к анаэробным.

Позднее эта точка зрения была подвергнута критике. В опытах Paul [5] с культурой клеток почки, в работах Lutton с соавторами [6] с культурой

¹Представлена доктором биологических наук профессором В.Г.Подковкиным.

²Антонеева Инна Ивановна, кафедра лучевой терапии, лучевой диагностики и онкологии Ульяновского государственного университета, 432700, Россия, г.Ульяновск, ул. К.Либкнехта, 1.

³Генинг Татьяна Петровна, кафедра физиологии и патофизиологии Ульяновского государственного университета, 432700, Россия, г.Ульяновск, ул. К.Либкнехта, 1.

клеток саркомы, в исследованиях И.Ф. Сейца с соавторами [7], проводившихся на малигнизированных бластных клетках, было показано, что дыхание в опухолевых клетках несколько ниже, чем в нормальных тканях, но достаточно интенсивно и сопряжено с фосфорилированием. При этом за счет дыхания вырабатывается почти половина АТФ, продуцируемая клетками. В то же время усиление способности к гликолизу при малигнизации представляется твердо установленным экспериментальным фактом [8].

При исследовании *in vitro* в раковых клетках постоянно протекает аэробный гликолиз, интенсивность которого столь велика, что дыхание не способно подавить его полностью [9].

Заслуживает внимания также еще одно свойство раковых клеток — эффект Crabtree [10]. Эта реакция подавления дыхания гликолизом была изучена Н.В. Ельциной [11] в клетках асцитной карциномы Эрлиха.

Однако ни аэробный гликолиз, ни эффект Кребтри не являются специфическими только для раковой клетки; они имеют место и в нормальных клетках, в частности, в лимфатических узлах, сетчатке глаза, гранулоцитах.

Таким образом, результаты изучения дыхания в раковых клетках *in vitro* позволяют заключить, что последние имеют два потенциально равноценных энергетических механизма — дыхание и гликолиз.

Необходимость с осторожностью относиться в данной ситуации к результатам, полученным *in vitro*, диктуется уже тем фактом, что условия развития злокачественной опухоли в организме исключают аэробный гликолиз вследствие местной гипоксии [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение активности мембраносвязанных митохондриальных ферментов СДГ и ЦХО, обеспечивающих аэробное дыхание, в опухолевых клетках эпителиального рака яичников в различные клинические стадии заболевания.

1. Материал и методы

Опухолевая ткань для исследования была получена от 136 больных первичным раком яичников, находившихся в I–IV стадии заболевания (по FJGO), получивших лечение на базе Ульяновского ООД в период 2002–2004 гг. Диагноз рака яичников у всех больных подтвержден морфологически. Обследуемые были разделены на две группы: больные, находящиеся в репродуктивном периоде, средний возраст $41,8 \pm 2,3$ года, и больные, находящиеся в постменопаузе, средний возраст $63,7 \pm 1,2$ года. В качестве группы госпитального контроля (с целью получения для исследования ткани внешне нормального яичника) к обследованию привлечены 41 пациентка (18 — в репродуктивном периоде; 28 — в постменопаузе), подвергавшихся в том же отделении операции по поводу рака тела матки, а также 13 паци-

енток (6 — в репродуктивном периоде, 7 — в постменопаузе), подвергавшихся в том же отделении операции по поводу миомы матки.

Материал, полученный для исследования, немедленно переносили в лабораторию в охлажденном забуференном физиологическом растворе (рН — 7,4), тщательно отмывали ткань тем же раствором на холоде от остатков крови. Гомогенат получали с использованием гомогенизатора Поттера. Активность СДГ определяли по Slater [12], ЦХО — по Vernon [13]. Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

2. Результаты исследований и их обсуждение

Среди мембраносвязанных ферментов митохондрий СДГ и ЦХО занимают одно из ключевых положений. СДГ катализирует окисление сукцината в цикле Кребса, действуя в реакции как акцептор водорода. Пары электронов, отдаваемые промежуточными продуктами цикла трикарбоновых кислот, восстанавливают молекулярный кислород — конечный акцептор электронов в процессе дыхания. В переносе электронов от органических субстратов к молекулярному кислороду принимают участие цитохромы. Последний цитохром в цепи, реагирующий с кислородом — цитохромоксидаза, прочно связан с митохондриальной мембраной. Считается доказанным на сегодня, что молекулы — переносчики электронов — сгруппированы в надмолекулярные структуры — дыхательные ансамбли, прочно встроенные в структуру внутренней митохондриальной мембраны.

К сожалению, мы не обнаружили в доступной литературе данных об активности СДГ и ЦХО в ткани эпителиальных злокачественных опухолей яичника у человека.

Результаты изучения активности СДГ и ЦХО в ткани яичников приведены в табл. 1, 2. С целью оценки так называемой "активной нормы", т.е. активности ферментов дыхания в немалигнизированных органах в организме, находящихся в состоянии ракового стресса, определяли активность СДГ и ЦХО в ткани внешне нормальных яичников у больных раком тела матки на разных стадиях заболевания (в репродуктивном периоде или в постменопаузе).

Как следует из данных, приведенных в табл. 1 и на рис. 1–2, активность изученных ферментов в ткани внешне нормального яичника в репродуктивном периоде у больных раком тела матки достоверно не отличается от таковой у больных с миомой матки.

Несколько иная картина имеет место у больных, находящихся в периоде постменопаузы. В ткани яичников больных раком тела матки, находящихся в I и II стадиях заболевания, имеет место статистически недостоверное, но достаточно выраженное снижение активности изученных ферментов. У больных, находящихся в III стадии заболевания, активность СДГ и ЦХО

Таблица 1

Активность СДГ и ЦХО в ткани внешне нормального яичника у больных раком тела матки в зависимости от клинической стадии заболевания

Параметр	Группа			
	Миома матки n = 6	Рак тела матки		
		I стадия n = 6	II стадия n = 5	III стадия n = 7
	Репродуктивный период			
СДГ	26,1±2,13	25,9±3,09 $p > 0,5$	26,2±1,62 $p > 0,5$	27,0±3,11 $p > 0,5$
ЦХО	334,4±11,83	330,08±3,72 $p > 0,5$	336,8±2,13 $p > 0,5$	340,8±4,19 $p > 0,5$
	Постменопауза			
	СДГ	20,0±1,01	18,4±1,32 $p > 0,5$	17,2±0,97 $p > 0,5$
	ЦХО	293,6±13,66	280,8±4,91 $p > 0,5$	271,6±3,19 $p > 0,5$

статистически достоверно ниже таковой в ткани яичников у больных с миомой матки. Это согласуется с положением о том, что в организме — носителе злокачественной опухоли — изменен обмен веществ не только в самой опухоли, но и в непораженных процессом органах и тканях [14, 15]. Кроме того, активность СДГ и ЦХО в ткани внешне нормальных яичников как у больных с миомой матки, так и у больных с раком тела матки, находящихся в постменопаузе, статистически достоверно и существенно ниже таковой у больных, находящихся в репродуктивном периоде.

Результаты оценки активности ферментов в опухолевой ткани больных с эпителиальным раком яичников представлены в табл. 2.

Анализ данных, представленных в табл. 1 и 2, показывает, что уровень активности мембраносвязанных митохондриальных ферментов СДГ и ЦХО в опухолевой ткани больных раком яичников, находящихся как в репродуктивном периоде, так и в менопаузе, на всех клинических стадиях заболевания существенно и в основном достоверно снижен по сравнению с активностью данных ферментов в ткани внешне нормального яичника как у больных миомой матки, так и у больных с раком тела матки ("активная норма"). Это укладывается в целом в существующие представления о том, что углеводный обмен опухолевой клетки, поставляющий энергию для повышенного белкового синтеза, характеризуется усилением гликолиза на фоне ослабленного дыхания и реализации эффекта Кребтри. В результате опухолевая ткань поглощает огромное количество глюкозы и выбрасывает в кровь недоокисленные продукты обмена. Поскольку в опухолевой клетке нарушены все мембранные структуры, то нарушение мембранного аппарата митохондрий может играть определенную роль в изменении активности мембраносвязанных митохондриальных ферментов.

Таблица 2

**Активность СДГ и ЦХО в опухолевой ткани у больных раком
яичников**

Параметр	Группа			
	Клиническая стадия заболевания			
	I	II	III	IV
	Репродуктивный период			
СДГ	21,4±1,32* n = 9	19,7±0,93* n = 5	18,1±1,28* n = 36	18,4±0,89* n = 8
ЦХО	290,7±9,84 n = 9	271,6±12,9 n = 5	267,5±7,48 n = 36	264,4±8,16 n = 8
	Постменопауза			
СДГ	17,8±1,21 n = 20	15,4±0,97* n = 5	11,3±1,32* n = 33	11,1±0,48* n = 14
ЦХО	271,4±12,9 n = 20	260,5±9,32* n = 5	238,8±10,40* n = 33	240,5±12,36* n = 14

Примечание: * — данные, достоверно отличающиеся от показателей в ткани внешне нормальных яичников.

Снижение активности указанных ферментов в постменопаузе по сравнению с репродуктивным периодом является логичным в свете представления о том, что митохондрии являются "наиболее уязвимым и основным, стартовым" звеном в старении клетки [16].

Анализ динамики активности СДГ и ЦХО в зависимости от клинической стадии заболевания у больных, находящихся как в репродуктивном периоде, так и в менопаузе, показывает однонаправленные количественные изменения, а именно снижение активности в каждой последующей стадии по сравнению с предыдущей. Это дает основания предполагать связь гипоксии с опухолевой прогрессией. Следует отметить, что активность ферментов в опухолевой ткани больных с IV клинической стадией достоверно не отличается от таковой у больных с III клинической стадией. Более того, в этой группе в опухолевой ткани у двух больных, находящихся в постменопаузе, активность СДГ и ЦХО существенно и достоверно превышала таковую в ткани внешне нормальных яичников. Возможно, это связано с тем, что клетки, преодолевшие барьер Хейфлика, при непрерывном размножении утрачивают стабильность генома. В результате в составе опухолей может быть несколько клонов, отличающихся по своим биологическим свойствам, в частности, по уровню активности дыхательных ферментов. Возникновению таких клонов может также способствовать высокая плотность ангиогенеза. Полагают, что гипоксические опухоли более проангиогенны, а продолжающаяся гипоксия стимулирует ангиогенез с последующей реоксигенацией гипоксических областей опухоли [17].

Таким образом, результаты исследований *in vivo* показали, что активность митохондриальных мембраносвязанных ферментов в опухолевой ткани при раке яичников достоверно ниже активности данных ферментов в

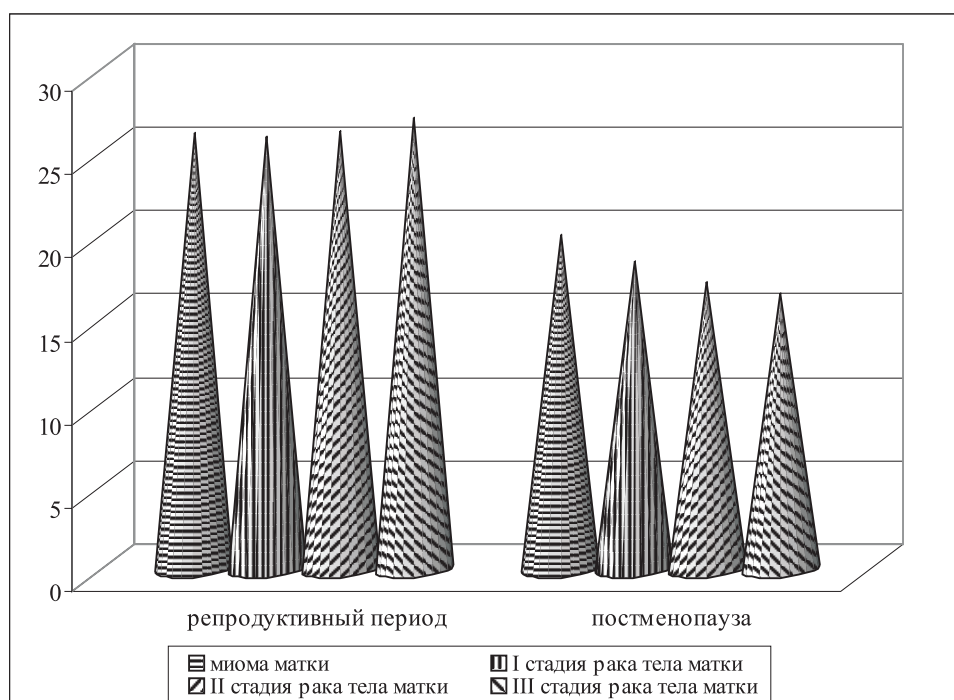


Рис. 1. Активность СДГ в ткани внешне нормального яичника

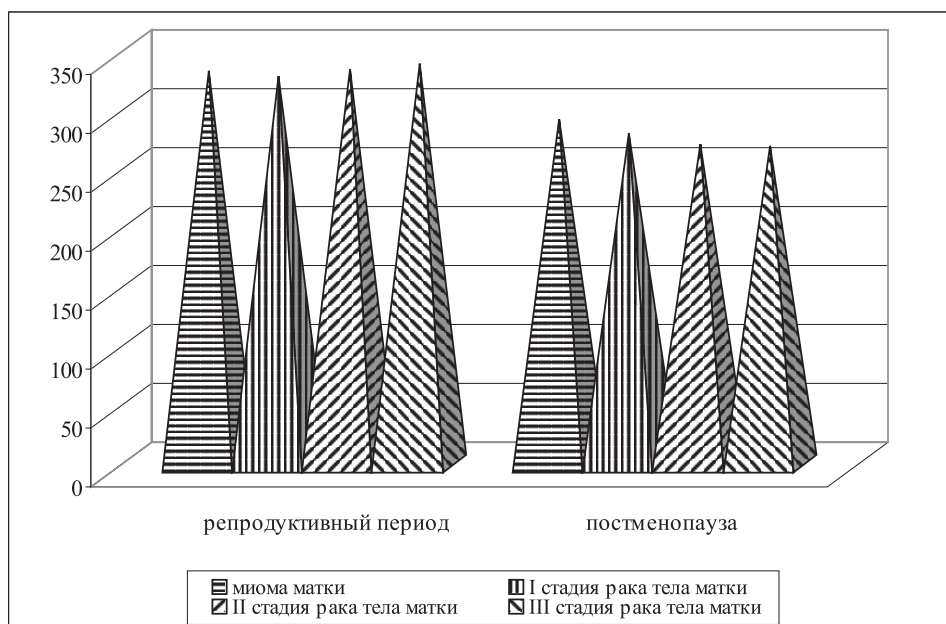


Рис. 2. Активность ЦХО в ткани внешне нормального яичника

ткани внешне нормальных яичников и снижается на I–III клинических стадиях заболевания как у больных, находящихся в репродуктивном периоде, так и у больных в постменопаузе. Длительная гипоксия в нормальных клетках индуцирует апоптоз, который снижен или отсутствует в клетках с инактивированным опухолевым супрессором p^{53} . Следовательно, гипоксия может быть фактором отбора клеток, лишенных p^{53} .

Литература

- [1] Warburg O. Über den stoffwechsel der Tumoren. Berlin, 1926. 49 S.
- [2] Warburg O. On the origin of Cancer Cell // Science. 1956. V. 123. P. 309.
- [3] Aisenberg A.C. The glycolysis and respiration of tumors. Acad. Press, 1961. 63 p.
- [4] Goldblatt H., Cameron G. Induced Malignancy in cell from Rat Myocardium subjected to intermittent anaerobiosis during long propagation in vitro // J. Exp. Med. 1953. V. 97. P. 525.
- [5] Paul J. Metabolic Processes in Normal and Cancer Cells // Biology of Cancer (ed. Ambrose E.J.). 1966. P. 52.
- [6] Lutton J.D., Kopas M.L. Cartesian Diver studies on Respiration and Glycolysis of High and Low Sarcoma Zines // Cancer Res. 1971. V. 31. P. 1564.
- [7] Сейц И.Ф., Луганова И.С. Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. Л.: Медицина, 1967. 123 с.
- [8] Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М.: Медицина, 1975. 304 с.
- [9] Weinhouse S. Discussion // Biochem. J. 1972. V. 28. P. 345.
- [10] Crabtree H.B. Observations on carbohydrate metabolism of tumours // Biochem. J. 1929. V. 23. P. 536.
- [11] Ельцина Н.В. Взаимосвязь энергетического и пластического обмена в злокачественных опухолях: Автореф. ... дис. д-ра биол. наук. М., 1965. 41 с.
- [12] Slater T.F. Necrogenic action of carbon tetrachloride in the rat: a speculative mechanism based on activation // Nature (London). 1966. V. 209. P. 36–40.
- [13] Овезмурадова Э.С. Изменение активности ЦХО в тканях больных крыс при остром перегревании // Здоровоохран. Туркменистана. 1966. №4. С. 26–27.
- [14] Хоменко А.К., Долженко В.П., Дячок Ф.И. Антиполиамины и антиканцерогенез. // Факторы антиканцерогенеза. К.: 1974. С. 84–86.
- [15] Hřak J., Marotti T. Immunosuppression mediated by Ehrlich ascites fluid // Europ. J. Cancer. 1973. V. 9. P. 717.

- [16] Лио Б.Н. Митохондрии и кислородно-перекисный механизм старения // Успехи совр. биологии. 2002. Т. 122. №4. С. 376–389.
- [17] Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза. М.: ГЭОТАР–МЕД, 2004. 137 с.

Поступила в редакцию 17/I/2005;
в окончательном варианте — 7/V/2005.

OXYGEN METABOLISM IN THE EPITHELIAL TUMOR TISSUE OF OVARY⁴

© 2005 I.I. Antoneeva⁵ T.P. Gening⁶

In the paper the comparative analysis of the membranebound mitochondrial enzyme (succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase) activity level in the tumor of the ovary epithelial tissue in dependence on the clinical stage of the disease is studied. The decrease of the enzyme activity in comparison with that in the outwardly normal ovaries is revealed. The decrease of the enzyme activity level correlates with the tumor progression.

Paper received 17/I/2005.
Paper accepted 7/V/2005.

⁴Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. V.G. Pogkovkin.

⁵Antoneeva Inna Ivanovna, Dept. of Radiation Therapy, Radiodiagnostics and Oncology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, 432600, Russia.

⁶Gening Tatiana Petrovna, Dept. of Physiology and Pathological Physiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, 432600, Russia.