

УДК: 577.151/.152

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТИАМИНА В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ТКАНЕЙ МИОМЕТРИЯ ЖЕНЩИН ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

О.В.Кочмар, С.А.Петров

Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова (Одесса, Украина)

Процесс малигнизации сопровождается увеличением содержания тиаминфосфатов во фракции ядер и неразрушенных клеток, это свидетельствует об активно протекающих процессах биотрансформации некоферментной формы витамина в коферментную. В то же время в общей фракции рибосом и лизосом наблюдается обратная картина, что может быть связано с перераспределением различных форм тиаминфосфата между клеточными фракциями. В образцах доброкачественных новообразований показатели распределения разных форм тиаминфосфата имеют схожие тенденции в ядерной фракции и фракции митохондрий.

Ключевые слова: *обмен тиаминфосфата, тиаминфосфаты, миометрий, опухоль.*

Введение

Клинические наблюдения и биохимические исследования свидетельствуют о том, что патологические процессы в организме сопровождаются в той или иной мере нарушениями метаболизма витаминов. Это обусловлено как экзогенными, так и эндогенными факторами. Среди них значительное место занимает эндогенная форма витаминного дефицита, приводящая к нарушениям процессов метаболизма. При этом создаются условия для поливитаминой недостаточности организма, которая сопровождается нарушениями синтеза ферментов, гормонов, иммунных тел (Бучина и др., 2002; Коденцова и др., 1999; Нарисава Кунаки, 1999; Тищенко и др., 2000; Basu, Dickerson, 1976; Endo, Yosizawa, 1976; Singleton, Martin, 2001; Staneva-Dobrovski, 1994).

Витамины и их производные функционируют в организме как коэнзимы, клеточные антиоксиданты, регуляторы ферментов, а также как индукторы генной экспрессии. Целостность физиологических систем, включая процессы детоксикации, клеточной репарации, реакций иммунитета, нервной и эндокринной функций зависят от витаминного статуса организма. Роль витамина В₁ в онкогенезе не выяснена и мало изучена (Требухина, 1984).

Среди многочисленных нарушений, вызванных присутствием опухоли в организме, процессы метаболизма тиаминфосфата остаются наименее изученными. Литературные данные, представленные по этому вопросу, очень противоречивы, а главное – они с трудом сопоставляются одни с другими, так как большая часть исследований выполнялась на различных объектах и типах опухолей (Островский, 1974; Шапот, 1975, 1979; Дьячкова, Спиричев, 1967; Edström et al., 1982).

Целью настоящей работы являлось изучение особенностей процесса фосфорилирования тиаминфосфата в немалигнизированной и опухолевых тканях миометрия.

Материалы и методы

Биологическим источником исследуемых субклеточных фракций служили образцы немалигнизированной ткани миометрия, а также ткани доброкачественной (узловая фибролейомиома матки) и злокачественной (умереннодифференцированная лейомиосаркома матки) опухоли, которые были получены операционным путем у женщин (40–55-летнего возраста), не проходивших дооперационного медикаментозного лечения. Образцы здорового миометрия были предоставлены клинической лабораторией медицинского учреждения, которое обеспечивало соблюдение всех этических норм. Патоморфологические диагнозы были верифицированы по международной классификации ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения, 1981). Миома матки относится к числу наиболее распространенных доброкачественных опухолей женских половых органов и выявляется у 20–25 % женщин репродуктивного возраста. Злокачественные новообразования миометрия встречаются реже по сравнению с доброкачественными, пик их приходится на перименопаузальный и собственно менопаузальный периоды.

Образцы тканей гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы в соотношении 1:10. Далее проводили выделение субклеточных фракций тканей методом дифференциального центрифугирования по Джонсону и Ларди (Johnson, Lardy, 1967). Осадок митохондрий два раза промывали. В полученных фракциях определяли содержание белка по методу Lowry (Lowry et al., 1951), свободного и общего тиаминфосфата. Разность между суммой общего и свободного тиаминфосфата соответствовала количеству связанного с белками (коферментного) тиаминфосфата.

Расчет проводили на 1 г свежей ткани.

Определение свободного и общего тиамин в тканях проводили тиохромным методом Г.Д.Елисейевой (Елисейева, 1953), который основывается на определении продукта реакции окисления тиамин в щелочной среде – тиохрома – под действием красной кровяной соли. Общий тиамин определяли с помощью препарата фермента кислой фосфатазы, выделенной из *Aspergillus niger*, в случае свободного тиамин – этот фермент не добавляли.

Статистическую обработку проводили с использованием критерия Стьюдента (Рокицкий, 1967).

Результаты и обсуждение

Исследование содержания общего, свободного тиамин и тиаминфосфатов во фракции ядер и неразрушенных клеток (табл.) показало, что содержание свободного тиамин достоверно не

Таблица.

Содержание тиамин, тиаминфосфатов и их соотношение в субклеточных фракциях ткани миометрия женщин при некоторых патологиях

Патоморфологический критерий	n	Содержание белка, мг/г ткани	Содержание общего тиамин, мкМ/г ткани	Содержание свободного тиамин, мкМ/г ткани	Содержание тиаминфосфатов, мкМ/г ткани	Соотношение тиаминфосфаты / белок, мкМ/мг	Соотношение тиаминфосфаты/общий тиамин
Ткань без новообразований	24	Фракция ядер и неразрушенных клеток					
		1563,9 ± 165,3	40908,6 ± 4099,1	16500 ± 1675,3	24408,6 ± 2432,7	15,607	0,597
		Общая фракция рибосом и лизосом					
		153,8 ± 14,7	2666,7 ± 277,7	750 ± 68,8	1916,7 ± 190,3	12,462	0,719
Узловая фибролейомиома	43	Фракция ядер и неразрушенных клеток					
		1933,5 ± 97,5	54544,8 ± 2731,3	20250 ± 1017,3	34294,8 ± 1714,1*	17,737	0,629
		Общая фракция рибосом и лизосом					
		190,8 ± 9,1	1750 ± 86,4*	1000 ± 48,5	750 ± 36,2*	3,931	0,428
Умеренно-дифференцированная лейомиосаркома	21	Фракция ядер и неразрушенных клеток					
		1952,1 ± 183,7	109089,6 ± 10941,1*	15000 ± 1488,8	94089,6 ± 9387,9*	48,2	0,862
		Общая фракция рибосом и лизосом					
		191,4 ± 17,3	2000 ± 204,2	750 ± 61,1	1250 ± 121,7*	6,532	0,625
		Фракция митохондрий					
		42,9 ± 4,9	14999,9 ± 1509,2	2833,3 ± 293,1	12249,9 ± 1243,5	285,545	0,817
		Фракция митохондрий					
		54,4 ± 3,1	23214,1 ± 1160,7*	3125 ± 15,3	20089,1 ± 1009,8*	369,284	0,865
		Фракция митохондрий					
		229,2 ± 25,1*	14285,6 ± 1431,3	2000 ± 189,7*	12285,6 ± 1219,1	53,61	0,860

Примечания: * – $P < 0,05$ – по отношению к ткани без новообразований;
 n – количество проанализированных образцов соответствующего патоморфологического критерия (соответствует количеству пациенток).

во всех трех проанализированных тканях, а количество общего витамина и тиаминфосфатов в 2,7 раза и в 3,8 раза увеличивается в ткани со злокачественным новообразованием по сравнению с показателями неизменной ткани. Увеличение общего содержания витамина в ткани со злокачественным новообразованием обусловлено высоким уровнем тиаминфосфатов – метаболически активной формы витамина, что связано с повышенным уровнем метаболизма в опухолевых клетках и, соответственно, повышенной потребностью в витаминах.

В общей фракции рибосом и лизосом (табл.), в отличие от фракции ядер и неразрушенных клеток, уровень общего тиамину и тиаминфосфатов выше в ткани без новообразований, а уровень сводного тиамину существенно не изменялся. Следует отметить, что уровень коферментной формы тиамину возрастает в 1,7 раза в ткани злокачественной опухоли по сравнению с тканью доброкачественного новообразования, оставаясь ниже в 1,5 раза, чем в ткани без новообразований. При доброкачественном процессе отмечен приблизительно одинаковый уровень свободного тиамину и тиаминфосфатов, в то время как в неизменной ткани и в ткани злокачественного новообразования общий тиамин представлен в большей степени его коферментной формой.

Содержание свободного тиамину в митохондриальной фракции (табл.) аналогично фракции ядер и неразрушенных клеток не изменяется при развитии патологического процесса, однако в отличие от фракции ядер и неразрушенных клеток и общей фракции рибосом и лизосом, увеличение уровня как общего, так и коферментной формы тиамину обнаружено только в ткани с доброкачественной опухолью.

Следует отметить, что наибольшее содержание витамина установлено во фракции ядер и неразрушенных клеток, которое в 40 раз превышает содержание тиамину в общей фракции рибосом и лизосом. По-видимому, это может свидетельствовать об отсутствии тиаминзависимых ферментов в лизосомах и рибосомах.

Особое значение имеет соотношение тиаминфосфатов и общего содержания тиамину в тканях (табл.). Оно указывает на долю метаболически активного тиамину. Так, в частности, это соотношение существенно увеличивалось во фракции ядер и неразрушенных клеток в ряду: ткань без новообразований – ткань со злокачественной опухолью. В общей фракции рибосом и лизосом наблюдалась противоположная картина, а в митохондриальной фракции достоверных изменений нами не установлено. Эти данные свидетельствуют о том, что при онкопроцессе наблюдается перераспределение тиамину и его фосфатов между общей фракцией рибосом и лизосом с одной стороны и ядрами и другими органеллами клетки с другой стороны.

Изучение соотношения тиаминфосфатов к белку (табл.) показало, что этот показатель во фракции митохондрий в 7 раз выше, чем во фракции ядер и неразрушенных клеток и общей фракции рибосом и лизосом. Это соотношение изменяется в сторону увеличения в митохондриальной фракции, выделенной из неизменной ткани и ткани с опухолью, а в общей фракции рибосом и лизосом и во фракции ядер и неразрушенных клеток практически не изменяется при наличии патологического процесса.

Заключение

Таким образом, основную часть общего тиамину в норме представляют тиаминфосфаты. В процессе трансформации клеток в некоторых случаях происходит значительное увеличение уровня коферментной формы тиамину во фракции ядер и неразрушенных клеток, что, по нашему мнению, может быть связано с усилением процессов биотрансформации в клетках новообразований свободного витамина в коферментную форму. В то же время в общей фракции рибосом и лизосом наблюдается обратная картина, что может быть связано с перераспределением различных форм тиамину между клеточными фракциями. Разница содержания свободного и общего тиамину может быть обусловлена разными причинами, например, изменениями количества органелл, проникновения тиамину, активности тиаминметаболизирующих ферментов и другими факторами.

Список литературы

- Бучина О.В., Тищенко Л.Д., Долгов Н.А. и др. Статус тиамину и пиридоксина у больных красной волчанкой // Вестн. последиплом. мед. образ. – 2002. – №1. – С.39.
- Всемирная Организация Здравоохранения // Материалы ежегодных отчетов. – Санкт-Петербург, 1981. – 286с.
- Дьячкова Л.В., Спиричев В.Б. Витамин В₁ и злокачественный рост // Материалы национальной конференции по витаминологии. – Яссы, 1967. – С. 30–35.
- Елисеева Г.Д. Флуориметрическое определение тиамину, кокарбоксилазы и рибофлавина в биологических объектах // Витамины. – 1953. – Т.1. – С. 38–57.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Денисова С.Н., Спиричев В.Б. Обмен витаминов В₁ и В₂ при фенилкетонурии // Вопр. мед. химии. – 1999. – Т.45, №2. – С. 150–157.

- Нарисава Куниаки Молекулярные основы врожденных нарушений метаболизма, связанных с витаминами // Витамини. – 1999. – Т.73, №10. – С. 591–597.
- Островский Ю.М. Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты. – Минск: Наука и техника, 1974. – 263с.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1967. – 326с.
- Тищенко Л.Д., Хаддад С.М., Тищенко А.Л. и др. Статус тиамин у больных красной волчанкой // Вестник дерматологии и венерологии. – 2000. – №3. – С. 23–25.
- Требухина Р.В. Особенности метаболизма тиамин в организме при росте злокачественных опухолей. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – Минск, 1984. – 32с.
- Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. – Москва: Медицина, 1975. – 304с.
- Шапот В.С. Опухоль и организм // Эксперим. онкол. – 1979. – Т.1, №2. – С.16–24.
- Basu T.K., Dickerson J.W. The thiamine status of early cancer patients with particular reference to those with breast and bronchial carcinomas // Oncology. – 1976. – Vol.33, № 5–6. – P. 250–252.
- Edström S., Bennegard K., Edén E., Lundholm K. Energy and tissue metabolism in patients with cancer during nutritional support // Arch. Otolaryngol. – 1982. – Vol.108, №11. – P. 697–699.
- Endo M, Yosizawa Z. Biosynthesis of sulfated glycoprotein in the endometrium of rabbit uterus // J. Biochem. – 1976. – Vol.79, №2. – P. 293–298.
- Johnson D., Lardy H. – In: methods in enzymology. – New York, 1967. – Vol.10. – P. 94–102.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Fan A.Z., Randol R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol.193. – P. 265–275.
- Singleton C.K., Martin P.R. Molecular mechanisms of thiamine utilization // Curr. Mol. Med. – 2001. – Vol.1, №2. – P. 197–207.
- Staneva-Dobrovski L. Thiamine pyrophosphatase cytochemistry in rat endometrium during the oestrous cycle // Histochemistry. – 1994. – Vol.102, №2. – P. 129–144.

**ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ТІАМІНУ В СУБКЛІТИННИХ ФРАКЦІЯХ ТКАНИН МІОМЕТРІУ
ЖІНОК ЗА ОНКОПАТОЛОГІЇ
О.В.Кочмар, С.А.Петров**

Процес малігнізації супроводжується зростанням вмісту тіамінфосфатів у фракції ядер та незруйнованих клітин, що свідчить про активно протікаючі процеси біотрансформації некоферментної форми вітаміну в коферментну. В той же час у загальній фракції рибосом та лізосом спостерігається протилежна картина, що може бути пов'язано з перерозподілом різних форм тіаміну між клітинними фракціями. У зразках доброякісних новоутворень показники розподілення різних форм тіаміну мають схожі тенденції в ядерній фракції та фракції мітохондрій.

Ключові слова: *обмін тіаміну, тіамінфосфати, міометрій, пухлина.*

**THE DIVISION OF THIAMINE IN THE SUBCELLULAR FRACTIONS OF FEMALE MYOMETRIUM
UNDER ONCOPATHOLOGY
O.V.Kochmar, S.A.Petrov**

The process of malignization is bound with increase of thiaminephosphate level in the fractions of undamaged cells and nuclei, that evident about active realizing of biotransform processes of noncoenzymic form of vitamin to coenzymic form. In the same time in the common ribosome and lysosome fractions there is another situation, this fact may be bound with the division of thiamine different forms between cell fractions. In the benign tumors the division of thiamine different forms has the similar tendency in nuclear and mitochondrial fractions.

Key words: *thiamine metabolism, thiaminephosphate, myometrium, tumor.*

**Представлено М.Ф.Леусом
Рекомендовано до друку Є.Е.Перським**