

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПУРИНОВОГО ОБМЕНА В ПЛАЗМЕ И ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ

¹Франциянц Е.М., ¹Каплиева И.В., ¹Димитриади С.Н., ¹Трепитаки Л.К., ¹Ткаля Л.Д.,
¹Алавердян И.А.

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия (344037, Ростов-на-Дону, 14 линия 63), e-mail: super.gormon@yandex.ru

Неуклонный рост больных раком почки, увеличение доли лапароскопических операций, позволяющих удалить опухоль в пределах здоровых тканей, и связанный с этим риск их ишемического повреждения вследствие ограничения кровотока в органе стимулируют ученых на поиск оптимального времени для таких вмешательств путем определения доступных маркеров гипоксии. У пациентов с терапевтической или акушерской патологией оценку ишемических состояний все чаще проводят, исследуя динамику пуринов крови. Развитие злокачественной опухоли является мощным дисрегуляторным фактором для всего организма и скорее всего вносит свои коррективы, изменяя количество этих субстанций. В настоящей работе методом прямой спектрофотометрии исследовано содержание отдельных метаболитов пуринового обмена в термокоагулятах лизатов эритроцитов и плазмы людей с раком почки разного пола и возраста. Было обследовано 39 человек. Установлено, что к особенностям пуринового обмена у всех больных раком почки можно отнести: в плазме — сдвиг пуринов в сторону увеличения удельного веса ксантина, в эритроцитах — высокий уровень мочевой кислоты и увеличение показателя тяжести гипоксии.

Ключевые слова: гуанин, аденин, гипоксантин, ксантин, мочевая кислота, эритроциты, плазма, рак почки

DYNAMICS OF PURINE EXCHANGE INDICES IN PLASMA AND ERYTHROCYTES OF BLOOD IN KIDNEY CANCER PATIENTS

Frantsiyants E.M.¹, Kaplieva I.V.¹, Dimitriadi S.N.¹, Trepitaki L.K.¹, Tkalya L.D.¹,
Alaverdyan I.A.¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia (344037, Rostov-on-Don, 14 Street, 63), e-mail: super.gormon@yandex.ru

The steady growth of kidney cancer patients, increase in the proportion of laparoscopic operations that allow removing the tumor within healthy tissues, and the risk of ischemic damage due to limited blood flow in the organ related to that encourage the scientists to look for optimum time for such surgeries by determining hypoxia markers. In patients having therapeutic or obstetrical pathology, the ischemic conditions are increasingly evaluated by analyzing the dynamics of blood purines. However, development of a malign tumor is a powerful disregulatory factor for the entire organism and is likely to make its allowances by altering the quantity of these substances. This paper studies the content of individual metabolites of purine exchange in thermocoagulates of lysates of erythrocytes and plasma of kidney cancer patients of various age and sex by the direct spectrophotometry method. 39 people were examined. It has been stated that the following can be referred to particularities of purine exchange in all kidney cancer patients: in plasma – the shift of purines towards higher specific weight of xanthine, in erythrocytes – a high level of uric acid and rise of hypoxia severity factor.

Keywords: guanine, adenine, hypoxanthine, xanthine, uric acid, erythrocytes, plasma, kidney cancer

В структуре онкологической заболеваемости на долю почек приходится 3,7%, и с каждым годом больных с данной патологией становится все больше. На сегодняшний день хирургическое удаление неоплазм является одним из основных способов лечения злокачественных опухолей. Во время оперативного вмешательства для уменьшения кровопотери хирург ограничивает регионарный кровоток, тем самым вызывая временную гипоксию оперируемого органа. Продолжительность такой гипоксии без повреждающего действия на «здоровые» ткани у людей разного пола и возраста может быть различной.

Известно, что в качестве маркеров гипоксического повреждения в организме могут быть использованы пурины крови [5]. Однако в онкологической практике, в частности при раке почек, возможность применения пуринов в этих целях не исследовалась. Ранее нами установлено, что содержание некоторых метаболитов пуринов у здоровых людей имеет гендерные и возрастные особенности [2]. В то же время не секрет, что рак почек, как и любая онкопатология, является мощным дизрегуляторным фактором для всего организма и скорее всего вносит свои коррективы, изменяя количество этих субстанций в организме.

Цель работы – изучить динамику гуанина (Г), гипоксантина (ГК), аденина (А), ксантина (КС), мочевой кислоты (МК) и их расчетных коэффициентов в плазме и эритроцитах крови у больных раком почки разного пола и возраста.

Материалы и методы

Было обследовано 39 человек. Мужчин – 17 человек, из них до 50 лет — 7, старше 50 лет – 10. Женщин – 22 человека: до 50 лет — 6, старше 50 лет – 16.

Из собранной с ЭДТА крови при помощи градиента – фикоколл-верографин выделяли плазму и эритроциты. Лизаты эритроцитов готовили путем замораживания-оттаивания (1 мл лизата содержал 1×10^9 клеток). Пуриновые метаболиты определяли методом прямой спектрофотометрии в водном растворе термокоагулянта плазмы и лизатов клеток венозной крови по методике Орешникова Е.В. и др., 2008 г. Ксантиноксидаза (КО) является ключевым ферментом окисления пуринов. Активность фермента на разных этапах его работы оценивали путем вычисления коэффициентов соотношения К/ГК, МК/К, МК/ГК. Соотношение К/ГК отражает активность работы КО на первом этапе – превращение ГК в К, отношение МК/К отражает активность работы КО на втором этапе – превращение К в МК, а отношение МК/ГК – общую активность фермента [5].

В качестве индикатора интенсивности пуринового обмена (ИПО) рассчитывали величину, представляющую собой отношение концентрации гипоксантина к количеству образующихся из него продуктов (ксантина и мочевой кислоты) и определяющую уровень необратимого катаболизма пуринов.

$$\text{ИПО} = \frac{[\text{ГК}]}{[\text{К}] + [\text{МК}]}$$

Так же вычисляли отношение концентраций (экстинций) К к Г – показатель тяжести гипоксии (ПТГ) [5].

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента на персональном компьютере посредством

программы STATISTICA 10.0 и непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

I. Плазма

Как видно из таблицы 1, у молодых мужчин, больных раком почки, содержание пуринов в плазме крови достоверно не отличалось от здоровых. В то же время в 1,3 раза уменьшалась активность КО на 2-м этапе работы и ИПО, что свидетельствовало об увеличении удельной доли одного из конечных продуктов метаболизма пуринов — К (табл.1).

Таблица 1

Концентрация пуриновых метаболитов (ед. экст.) и их расчетные коэффициенты (усл.ед.) в плазме крови больных раком мужчин

Пурины		Г	ГК	А	К	МК	Кэф. активности КО			ИПО	К/Г п-ль тяжести гипоксии
							1этап К/ГК	2 этап МК/К	оба этапа МК/ГК		
до 50 лет	здоровые	0,78 ±0,09	0,66 ±0,08	0,24 ±0,03	0,09 ±0,01	0,06 ±0,01	0,14 ±0,01	0,59 ±0,01	0,08 ±0,01	5,49 ±0,37	0,11 ±0,01
	рак почки	0,91 ±0,15	0,78 ±0,12	0,29 ±0,04	0,12 ±0,02	0,06 ±0,01	0,16 ±0,01	0,44* ±0,03 ↓	0,07 ±0,00	4,33* ±0,02 ↓	0,13 ±0,01
старше 50 лет	здоровые	0,72 ±0,06	0,62 ±0,05	0,22 ±0,02	0,08 ±0,01	0,04 ±0,01	0,12 ±0,01	0,56 ±0,02	0,07 ±0,01	6,45 ±0,53	0,10 ±0,01
	рак почки	0,49* ±0,09 ↓	0,42* ±0,08 ↓	0,17 ±0,03	0,09 ±0,01	0,04 ±0,01	0,23* ±0,02 ↑	0,40* ±0,03 ↓	0,09 ±0,00	3,13* ±0,26 ↓	0,20* ±0,02 ↑

Примечание: * — достоверные отличия от здоровых людей

У мужчин старшего возраста с онкопатологией уровни Г и ГК в плазме были в 1,5 раза меньше, чем у здоровых лиц (табл. 1). Активность КО увеличивалась в 2 раза на 1-м этапе работы и уменьшалась, как и у молодых мужчин, на 2-м этапе (в 1,4 раза). В 2 раза снижалась ИПО, и во столько же раз увеличивалось значение ПТГ (табл. 1).

Отличия пуринового обмена в плазме крови у мужчин старшего возраста по сравнению с молодыми при раке почки: меньшее содержание Г и ГК, большая активность КО на 1-м этапе работы, меньшая ИПО и больший ПТГ.

У женщин молодого возраста, больных раком почки, в плазме крови уменьшалось содержание всех пуриновых метаболитов: Г, ГК, А, К, МК соответственно в 4,1; 3,9; 3,0; 1,7 и 3 раза, по сравнению со здоровыми (табл. 2). Увеличивалась активность КО на 1-м этапе работы (в 2 раза) и снижалась активность — на 2-м (в 1,3 раза). Также в 2 раза уменьшалась ИПО и во столько же раз увеличивался ПТГ (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация пуриновых метаболитов (ед. экст.) и их расчетные коэффициенты (усл.ед) в плазме крови больных раком женщин

Пурины Группы		Г	ГК	А	К	МК	Коэф. активности КО			ИПО	К/Г п-ль тяжести гипоксии
							1 этап К/ГК	2 этап МК/К	оба этапа МК/ГК		
до 50 лет	здоровые	1,10 ±0,20	0,94 ±0,18	0,33 ±0,06	0,12 ±0,02	0,06 ±0,01	0,13 ±0,01	0,50 ±0,02	0,07 ±0,01	6,07 ±0,30	0,11 ±0,01
	рак почки	0,27* ±0,01 ↓	0,24* ±0,01 ↓	0,11* ±0,01 ↓	0,07* ±0,00 ↓	0,02* ±0,00 ↓	0,26* ±0,05 ↑	0,39* ±0,07 ↓	0,09 ±0,00 ↓	3,04* ±0,56 ↓	0,22* ±0,04 ↑
старше 50 лет	здоровые	0,71 ±0,08	0,61 ±0,07	0,26 ±0,04	0,14 ±0,03	0,09 ±0,02	0,21 ±0,03	0,63 ±0,01	0,13 ±0,02	4,00 ±0,60	0,18 ±0,03
	рак почки	0,46* ±0,03 ↓	0,36* ±0,03 ↓	0,15* ±0,01 ↓	0,09* ±0,01 ↓	0,03* ±0,00 ↓	0,23 ±0,01 ↓	0,38* ±0,01 ↓	0,09* ±0,01 ↓	3,05* ±0,22 ↓	0,21 ±0,01 ↓

Примечание: * — достоверные отличия от здоровых людей

У женщин старшего возраста, страдающих раком почки, как и у молодых, в плазме содержалось меньше пуринов, чем у здоровых женщин того же возраста: Г – в 1,5 раза, ГК – 1,7 раза, А – 1,7 раза, К – 1,6 раза, МК – 3 раза (табл. 2). У возрастных женщин КО изменяла свою работу только на 2 этапе: происходило снижение ее активности в 1,7 раза; в 1,3 раза уменьшалась ИПО (табл. 2).

Отличия пуринового обмена в плазме крови у молодых женщин по сравнению с возрастными при раке почки: меньшая величина Г и ГК, увеличение активности КО на 1-м этапе ее работы и увеличение ПТГ.

Во всех возрастных и гендерных группах больных раком почки в плазме снижалась ИПО. Причиной этого могли быть как дефицит ГК, так и повышенная продукция К и МК. С одной стороны, мы регистрировали дефицит ГК и Г у мужчин старшего возраста и у женщин всех возрастных групп. Г и ГК могли быть израсходованы на синтез нуклеотидов в растущей опухоли. Известно, что превращение Г и ГК соответственно в ГМФ и ИМФ направлено на сохранение пула АТФ, необходимого для осуществления процессов репарации клеток [8]. С другой стороны, мы отмечали и сдвиг пуринов в сторону накопления К во всех исследуемых группах на фоне снижения концентрации этого интрамедиата в плазме у женщин и отсутствия колебания его уровня – у мужчин.

Однотипные изменения активности КО и увеличение ПТГ в плазме у мужчин старшей возрастной группы и молодых женщин, больных раком почки, наводят на мысль об участии эстрогенов в этих процессах.

II. Эритроциты

Содержание пуринов в эритроцитах у молодых мужчин, страдающих раком почки, практически не отличалось от здоровых, за исключением ГК и МК. Так, уровень ГК

снижался в 1,6 раза, а МК, напротив, увеличивался – в 1,7 раза (табл. 3). Изменялись все расчетные коэффициенты: в 1,6 раза увеличивалась активность КО на обоих этапах ее работы, в 1,9 раза снижалась ИПО и в 1,5 раза возрастал ПТГ (табл. 3).

Таблица 3

Концентрация пуриновых метаболитов (ед. экст.) и их расчетные коэффициенты (усл.ед) в эритроцитах крови больных раком мужчин

Пурины Группы		Г	ГК	А	К	МК	коэф. активности КО			ИПО	К/Г п-ль тяжести гипоксии
							1 этап К/ГК	2 этап МК/К	оба этапа МК/ГК		
до 50 лет	здоровые	0,46 ±0,08	0,53 ±0,09	0,46 ±0,06	0,20 ±0,03	0,10 ±0,02	0,42 ±0,02	0,48 ±0,02	0,20 ±0,02	1,57 ±0,13	0,45 ±0,03
	рак почки	0,33 ±0,04	0,34* ↓	0,31 ±0,05	0,22 ±0,03	0,17* ↑	0,69* ↑	0,78* ↑	0,54* ↑	0,82* ↓	0,69* ↑
старше 50 лет	здоровые	0,46 ±0,12	0,48 ±0,11	0,44 ±0,07	0,17 ±0,02	0,07 ±0,02	0,37 ±0,03	0,37 ±0,04	0,14 ±0,02	1,89 ±0,21	0,42 ±0,03
	рак почки	2,18* ±0,32 ↑	1,99* ±0,21 ↑	1,86* ±0,24 ↑	1,68* ±0,31 ↑	1,37* ±0,25 ↑	0,83* ±0,07 ↑	0,81* ±0,00 ↑	0,68* ±0,05 ↑	0,66* ±0,05 ↓	0,67* ±0,09 ↑

Примечание: * — достоверные отличия от здоровых людей

У мужчин старшего возраста с раком почки в эритроцитах регистрировалось увеличение концентрации всех пуринов: Г, ГК, А, К, МК соответственно в 4,7; 4,1; 4,2; 9,9 и 19,6 раз (табл. 3). Динамика коэффициентов была такой же, как и у молодых мужчин, но амплитуда отклонений некоторых показателей была больше. Так, установлено, что активность КО на обоих этапах работы была в 2,2 раза выше, ИПО снижалась в 2,9 раза и ПТГ увеличивался в 1,6 раза, по сравнению со здоровыми людьми (табл. 3).

Отличия пуринового обмена в эритроцитах крови у мужчин старшего возраста по сравнению с молодыми при раке почки: большая концентрация всех пуринов, большая активность КО на всех этапах ее работы в сочетании с более низкими цифрами ИПО.

У молодых женщин с неоплазмой в почке в эритроцитах крови снижалось содержание предшественников пуринов: Г и ГК соответственно в 1,9 и в 1,7 раза. Уровень конечных продуктов: К и МК, напротив, увеличивался соответственно в 1,4 и 2,6 раз (табл. 4). Также у больных этой группы в эритроцитах увеличивалась активность КО на 1-м этапе – в 2,4 раза, на 2-м этапе – в 1,9 раза и ПТГ — в 2,3 раза. ИПО, напротив, снижалась в 3,1 раза (табл. 4).

Таблица 4

Концентрация пуриновых метаболитов (ед. экст.) и их расчетные коэффициенты (усл.ед) в эритроцитах крови больных раком женщин

Пурины Группы		Г	ГК	А	К	МК	Коэф. активности КО			ИПО	К/Г п-ль тяжести гипоксии
							1 этап К/ГК	2 этап МК/К	оба этапа МК/ГК		

до 50 лет	здоровые	0,73 ±0,13	0,67 ±0,11	0,40 ±0,06	0,19 ±0,02	0,08 ±0,01	0,29 ±0,02	0,43 ±0,02	0,12 ±0,01	2,45 ±0,19	0,30 ±0,03
	рак почки	0,39* ±0,02 ↓	0,38* ±0,02 ↓	0,35 ±0,01	0,27* ±0,01 ↑	0,21* ±0,01 ↑	0,71* ±0,02 ↑	0,80* ±0,02 ↑	0,57* ±0,03 ↑	0,79* ±0,02 ↓	0,68* ±0,01 ↑
старше 50 лет	здоровые	0,37 ±0,08	0,39 ±0,07	0,37 ±0,05	0,15 ±0,02	0,06 ±0,01	0,40 ±0,02	0,43 ±0,03	0,17 ±0,01	1,65 ±0,13	0,45 ±0,03
	рак почки	1,49* ±0,35 ↑	1,50* ±0,38 ↑	1,35* ±0,25 ↑	0,85* ±0,2 ↑	0,71* ±0,18 ↑	0,63* ±0,05 ↑	0,84* ±0,05 ↑	0,50* ±0,07 ↑	0,98* ±0,13 ↓	1,04* ±0,06 ↑

Примечание: * — достоверные отличия от здоровых людей

У возрастных женщин с исследуемой онкопатологией в эритроцитах крови увеличивалось содержание всех пуринов: Г – в 4 раза, ГК – в 3,8 раза, А – 3,6 раза, К – в 5,7 раза, МК – в 11,8 раз (Табл.4). Коэффициенты так же, как и у молодых женщин, практически все увеличивались, за исключением ИПО, который, напротив, уменьшался (табл. 4). Так, активность КО (1-й этап) увеличивалась в 1,6 раза, КО (2-й этап) – в 2 раза, ПТГ – в 2,3 раза; ИПО снижалась – в 1,7 раза (табл. 4).

Отличия пуринового обмена в эритроцитах крови у женщин старшего возраста по сравнению с молодыми при раке почки: бóльшая концентрация всех пуринов.

У всех больных раком почки в эритроцитах накапливались конечные продукты метаболизма пуринов – К и МК, на фоне уменьшения содержания ГК – у молодых мужчин и Г и ГК – у молодых женщин. Увеличение продукции МК в эритроцитах являлось, по всей видимости, следствием ишемии, развивающейся в злокачественной опухоли почки [3]. На наличие гипоксии, которая имеет место при онкопатологии, указывало и увеличение ПТГ. Известно, что гипоксия индуцирует усиление трансформации ксантиндегидрогеназы в КО, с помощью которой осуществляется окисление без участия никотинамидадениндинуклеотида с образованием супероксиданионрадикала [6]. Образующиеся супероксидные радикалы могут ингибировать 5'-нуклеотидазу и, как следствие, затруднять поступление нуклеотидов внутрь клетки, из-за чего может снизиться ее аденилатный заряд и нарушиться синтез белка [4]. Следовательно, эритроциты всех больных раком почки становятся в функциональном отношении неполноценными. Кроме того, известно, что МК наряду с гомоцистеином является активатором и участником прооксидантного контура положительных обратных связей, включающего ксантиноксидоредуктазу и НАДФ • Н-оксидазные комплексы в качестве непосредственных прооксидантных агентов. В силу физиологических и биохимических особенностей почки могут быть одним из наиболее подверженных влиянию этого контура органов [1].

Большее содержание всех пуринов в эритроцитах людей старшего возраста в сочетании с одинаковой ферментативной активностью КО у людей всех возрастных групп обусловлено

скорее всего повышенной проницаемостью мембран эритроцитов у пациентов старшей возрастной группы [7].

Таким образом, к особенностям пуринового обмена у больных раком почки можно отнести в плазме:

- 1) уменьшение активности КО на 2 этапе и уменьшение ИПО у всех больных, свидетельствующие о сдвиге пуринов в сторону увеличения удельного веса К;
- 2) активацию КО на 1-м этапе и увеличение ПТГ у мужчин старшего возраста и молодых женщин, что указывает на участие эстрогенов в этих процессах;
- 3) низкий уровень пуринов у всех женщин и ригидность уровня пуринов у молодых мужчин.
в эритроцитах:
 - 1) высокий уровень МК, повышенную активность КО на всех этапах работы, уменьшение ИПО и увеличение ПТГ у всех больных, что свидетельствует о состоянии гипоксии этих клеток;
 - 2) уменьшение количества ГК у молодых людей обоего пола;
 - 3) увеличение концентрации всех пуринов у пожилых людей на фоне одинаковой активности КО во всех возрастных группах.

Список литературы

1. Золотухин П.В., Чмыхало В.К., Макаренко В.С., Коринфская С.А. и др. Положительный контур мочевой кислоты, гомоцистеина, NOX И XOR: нефрологические аспекты. — 2014. — № 5. — С. 16–22.
2. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Димитриади С.Н. Гендерные отличия содержания пуринов в плазме и эритроцитах людей разного возраста. Фунд. исслед. – 2014. — № 7. – С. 290–294.
3. Ключев Д.А., Колесникова Е.А., Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Курманов М.С., Оспанова Л.Ж., Аймышева Л.Ж. Состояние пуринового обмена у больных гломерулонефритом // Совр. наук. техн. – 2010. – № 5. – С. 16–21.
4. Мартемьянов В.Ф., Карпова О.В., Емельянов Н.И., Бедина С.А. Активность 5'-нуклеотидазы в эритроцитах крови больных системной склеродермией // Актуальные проблемы современной ревматологии. Сб. науч. работ / Под ред. акад. РАМН А.Б. Зборовского. — Вып. XXIII. — Волгоград, 2006. — С. 91–92.
5. Орешников Е.В., Гунин А. Г., Мадьянов И.В., Орешникова С.Ф. Пурины ликвора и крови при беременности // Проблемы репродукции. — 2008. — № 6. — С. 74–80.

6. Хоролец Е. В., Хаишева Л. А., Шлык С. В., Кательницкая Л. И. Особенности пуринового обмена и перекисного окисления липидов у больных инфарктом миокарда // Рац. фармако-тер. в кард. – 2010 – Т. 6. — № 1. — С. 42–47.
7. Чанг Н.Т. Исследование структурного состояния мембран эритроцитов больных ишемической болезнью сердца старших возрастов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 97–103.
8. Muravluyova L.E., Molotov-Luchanskiy V.B., Kluyev D.A., Bakenova R.A., Demidchik L.A., Kolesnikova E.A. Purine Bases in Blood Plasma of Patients with Chronic Pulmonary Diseases // Europ. Res. – 2012. — Vol. 29. — № 9-2. — P. 1449–1454.

Рецензенты:

Геворкян Ю.А., д.м.н., профессор, руководитель отделения абдоминальной онкологии № 2 ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону;

Моисеенко Т.И., д.м.н., главный научный сотрудник отделения опухолей репродуктивной системы ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.