

СПЕКТР ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Б.С. Хышиктеев, Е.В. Каюкова, В.А. Каюков, П.П. Терешков

*Читинская государственная медицинская академия
672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, e-mail: elena_pochta22@mail.ru*

С помощью метода газожидкостной хроматографии изучен спектр высших жирных кислот опухолевой ткани при раке шейки матки (РШМ) с различной дифференцировкой. Независимо от степени дифференцировки РШМ наблюдается высокий уровень насыщенных жирных кислот по сравнению с контролем, главным образом, за счет увеличения количества С14:0 и появления нехарактерной для организма человека С19:0. Наблюдается повышенное содержание моноеновых ЖК в опухолевой ткани по сравнению с контрольными образцами. Дефицит полиеновых ЖК ω -6 серии отмечается во всех участках тканей. Выявлены особенности жирнокислотного состава РШМ с различной степенью дифференцировки.

Ключевые слова: рак шейки матки, высшие жирные кислоты.

THE FATTY ACID SPECTRUM OF TUMOR TISSUE IN CERVICAL CANCER WITH DIFFERENT HISTOPATHOLOGIC GRADES

B.S. Khyshiktuev, E.V. Kayukova, V.A. Kayukov, P.P. Tereshkov

Chita State Medical academy

39a, Gorkogo Street, 672090-Chita, Russia, e-mail: elena_pochta22@mail.ru

The higher fatty acid spectrum of tumor tissue in cervical cancer with different histopathologic grades was studied using the method of gas-liquid chromatography. Irrespective of differentiation grade, the high level of saturated fatty acids as compared to the control was observed mainly due to the increase in the amount of C14:0 and occurrence of C19:0. The increased level of monounsaturated fatty acids was observed in tumor tissue as compared to the control samples. Deficiency of ω -6 polyunsaturated fatty acids was noted in all tissue fragments. The specific features of fatty-acid composition of cervical cancer with different differentiation grade were found.

Key words: cervical cancer, higher fatty acids.

В структуре онкологической заболеваемости женщин рак шейки матки (РШМ) занимает I место в развивающихся странах и II – в развитых странах, уступая раку молочной железы [1, 6]. Ежегодно в мире выявляется почти 500 тыс. первичных случаев РШМ, что составляет 5 % среди всех локализаций злокачественных опухолей [10]. В последние годы наблюдается тенденция к росту заболеваемости этой неоплазией у женщин молодого возраста. В европейских странах с 70-х до 90-х гг. увеличилась заболеваемость среди женщин до 39 лет (20 %), при этом в возрасте до 29 лет этот показатель равнялся 4,9 % [1, 6]. Несмотря на значительные успехи в области диагностики и лечения РШМ [3, 4, 8], а также установление новых закономерностей возникновения и развития этого патологического процесса [2, 5, 11, 12], многие аспекты его этиопатогенеза остаются нераскрытыми. В связи с вышеизложенным актуальным является исследование ранее не изученных биохимических параметров злокачественных тканей шейки матки.

Цель исследования – изучить состав высших жирных кислот (ВЖК) ткани шейки матки у пациенток, страдающих РШМ с различной степенью дифференцировки.

Материал и методы

Объектом исследования служили образцы тканей шейки матки, полученные при биопсии и оперативном лечении у 30 больных РШМ I–III стадий, в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст – 36,1 года), проходивших обследование и лечение в Забайкальском краевом онкологическом диспансере. В соответствии с данными морфологического исследования каждый препарат был разделен на 3 фрагмента: А – опухолевый локус, Б – пограничный участок, В – ткань без признаков злокачественного роста. На основании результатов гистологических исследований были сформированы две группы:

- образцы низкодифференцированного рака: плоскоклеточный рак, n=7; аденокарцинома, n=1;
- образцы умеренно- и высокодифференциро-

ванного рака: плоскоклеточный рак, n=21; аденокарцинома, n=1.

Контрольная группа была представлена образцами ткани шейки матки без признаков атипии и воспалительных изменений, полученных при диагностической биопсии шейки матки у 20 здоровых женщин в возрасте от 20 до 46 лет (средний возраст – 32,4 года).

Для изучения спектра ВЖК липиды из биологических сред экстрагировали методом J. Folch (1957) [9]. После упаривания аликвота ВЖК метилировалась по К.М.Синяк с соавт. (1976) [7]. Затем метиловые эфиры очищались в тонких слоях силикагеля в хроматографической системе гексан:диэтиловый эфир:ледяная уксусная кислота (90:10:1 по объему), экстрагировались смесью хлороформ:метанол (8:1) и анализировались на хроматографе «Кристалл-2000М» (Россия) с плазменно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой 0,35×50 FFAP (USA). Для калибровки прибора применялся стандарт смеси ЖК. Обсчет, идентификация пиков осуществлялись с помощью программно-аппаратного комплекса «Analitika».

Результаты и обсуждение

В опухолевом локусе при низкодифференцированных формах РШМ процентное соотношение ненасыщенных жирных кислот (ЖК) и насыщенных аналогов изменялось в сторону роста последних (рис. 1). При этом наблюдалась тенденция к снижению уровня насыщенных ЖК по направлению от опухолевого очага к периферическим участкам. Доля моноеновых кислот в группах А, Б и В превышала контрольные показатели в 1,1, 1,4 и 1,2 раза соответственно. Количество полиеновых ЖК во всех участках РШМ было ниже контрольных значений и минимально в участках тканей, граничащих с опухолью.

Изменения в структуре ЖК представлены в табл. 1. Высокий уровень насыщенных ЖК в опухолевом очаге и на границе со здоровыми тканями обусловлен миристиновой кислотой, уровень которой возрастал на 84 % и 42 % по сравнению с контролем, а также появлением нехарактерной для организма человека C_{19:0}. Необходимо отметить, что в контрольных образцах и в группе В данная кислота не верифицировалась. На этом фоне величины маргариновой (C_{17:0}) и стеариновой кислот (C_{18:0}), напротив, уменьшались относительно контрольных

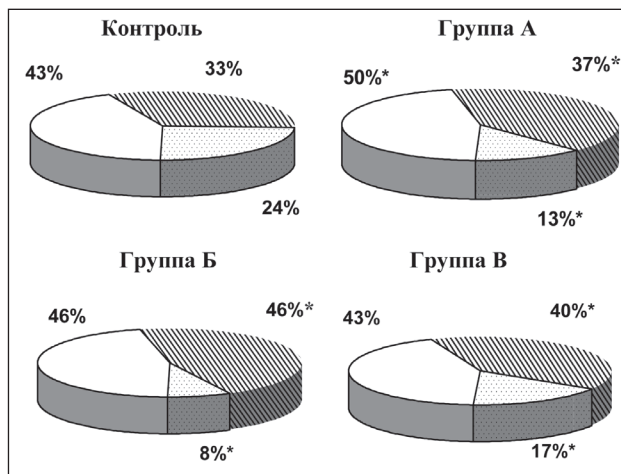


Рис. 1. Структура основных классов жирных кислот общих липидов в ткани эндоцервикса при низкодифференцированном РШМ.

Примечание: * – значимые различия по сравнению с группой контроля;

- Насыщенные ЖК;
- ▨ Моноеновые ЖК;
- Полиеновые ЖК

цифр во всех фрагментах тканей: C_{17:0} – на 68,3 %, 83,3 % и 46,7 % и C_{18:0} – на 20,7 %, 26,6 % и 32,7 % в группах А, Б и В соответственно.

Среди моноеновых ЖК преобладали пальмитолеиновая и олеиновая кислоты. Уровень первой из них превышал контрольные показатели на 53 %, 65,8 % и 87,8 % – в группах А, Б и В соответствен-

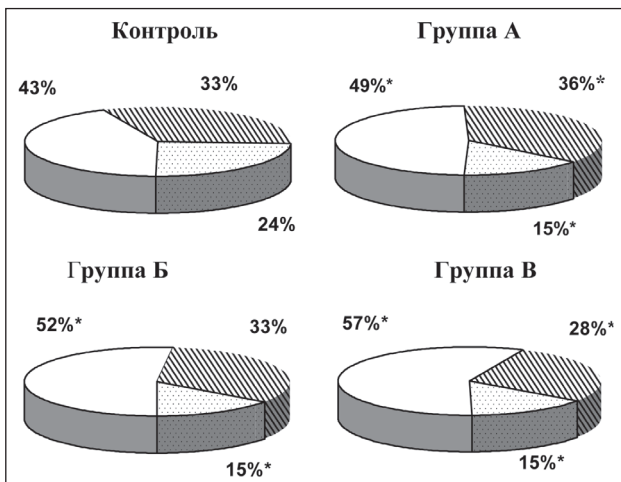


Рис. 2. Структура основных классов жирных кислот общих липидов в ткани эндоцервикса при умеренно- и высокодифференцированном РШМ.

Примечание: * – значимые различия по сравнению с группой контроля;

- Насыщенные ЖК;
- ▨ Моноеновые ЖК;
- Полиеновые ЖК

Таблица 1

**Жирнокислотный состав пораженного органа у больных
с низкодифференцированными формами РШМ (M±m)**

Шифр ЖК	Контроль (n=20)	Группа А (n=8)	Группа Б (n=8)	Группа В (n=8)
C _{14:0}	2,43 ± 0,19 %	4,48 ± 0,37 %*	3,46 ± 0,20 %*	2,94 ± 0,48 %
C _{16:0}	26,15 ± 1,68 %	28,55 ± 2,16 %	27,14 ± 1,93 %	29,98 ± 2,03 %
C _{16:1}	4,85 ± 0,34 %	7,42 ± 0,43 %*	8,04 ± 0,62 %*	9,11 ± 0,73 %*
C _{17:0}	0,60 ± 0,09 %	0,19 ± 0,05 %*	0,10 ± 0,04 %*	0,32 ± 0,09 %*
C _{17:1}	1,60 ± 0,24 %	0,59 ± 0,10 %*	0,80 ± 0,16 %*	3,05 ± 0,41 %* p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
C _{18:0}	13,90 ± 0,56 %	11,02 ± 0,47 %*	10,20 ± 1,01 %*	9,35 ± 0,84 %*
C _{18:1ω9}	26,14 ± 1,21 %	33,10 ± 1,92 %*	37,25 ± 2,16 %*	27,40 ± 2,13 % p ₂ <0,05
C _{18:2ω6}	14,38 ± 0,79 %	6,96 ± 0,39 %*	5,59 ± 0,38 %*	12,44 ± 1,10 % p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
C _{18:3ω3}	1,58 ± 0,13 %	0,49 ± 0,10 %*	0,37 ± 0,08 %*	1,16 ± 0,19 % p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
C _{19:0}	-	1,49 ± 0,25 %*	4,66 ± 0,62 %* p ₁ <0,001	-
C _{20:3ω6}	2,41 ± 0,42 %	3,56 ± 0,34 %*	1,06 ± 0,17 %* p ₁ <0,001	1,19 ± 0,12 %* p ₃ <0,01
C _{20:4ω6}	4,66 ± 0,48 %	1,76 ± 0,11 %*	0,87 ± 0,30 %* p ₃ <0,01	2,19 ± 0,34 %* p ₂ <0,001
C _{20:5ω3}	1,30 ± 0,16 %	0,39 ± 0,09 %*	0,41 ± 0,05 %*	0,87 ± 0,09 %* p ₂ <0,01 p ₃ <0,01
Σ ЖК ω6-серии	21,45 ± 1,02 %	12,28 ± 0,85 %*	7,52 ± 0,28 %* p ₁ <0,001	15,82 ± 0,71 %* p ₂ <0,001
Σ ЖК ω3-серии	2,88 ± 0,30 %	0,88 ± 0,11 %*	0,78 ± 0,20 %*	2,03 ± 0,16 %* p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Σ ЖК с неч. С	2,20 ± 0,16 %	2,27±0,20 %	5,56 ± 0,47 %* p ₁ <0,01	3,37 ± 0,8 %* p ₂ <0,01

Примечание: * – значимые различия по сравнению с группой контроля; p₁ – значимые различия между группами А и Б; p₂ – значимые различия между группами Б и В; p₃ – значимые различия между группами А и В.

но; второй – на 26,6 % и 42,5 % в опухолевом очаге и на границе со здоровыми тканями соответственно. Изменения C_{17:1} в периферических фрагментах и в злокачественном локусе носили разнонаправленный характер. Так, в тканях без признаков злокачественного роста ее уровень был наиболее высоким и превышал как контрольные величины – на 90,6 %, так и показатели в группах А и Б – на 80,7 % и 73,8 % соответственно.

Следует подчеркнуть, что во всех фрагментах тканей зарегистрирован дефицит полиеновых

аналогов. При этом их минимальное количество зафиксировано в группе Б. Уровень C_{18:2ω6} и C_{18:3ω3} в опухолевом очаге и на границе со здоровыми тканями снижался по сравнению с контролем: C_{18:2ω6} – на 51,6 % и 61,1 %; C_{18:3ω3} – на 69 % и 76,6 % соответственно. Подобная картина характерна и для C_{20:4ω6} и C_{20:5ω3}. Напротив, значения C_{20:3ω6} максимальны в опухолевом очаге и минимальны в остальных группах. Для образцов тканей, граничащих с опухолью, характерно наибольшее накопление ЖК с нечетным числом атомов углерода (табл. 1).

**Жирнокислотный состав пораженного органа у больных
с умеренно- и высокодифференцированными формами РШМ (M±m)**

Шифр ЖК	Контроль (n=20)	Группа А (n=22)	Группа Б (n=22)	Группа В (n=22)
C _{14:0}	2,43 ± 0,19 %	3,77 ± 0,18 %*	2,13 ± 0,18 % p ₁ <0,01	4,68 ± 0,31 %* p ₂ <0,01
C _{16:0}	26,15 ± 1,68 %	31,65 ± 1,79 %*	35,13 ± 2,29 %*	38,45 ± 2,85 %* p ₃ <0,05
C _{16:1}	4,85 ± 0,34 %	4,19 ± 0,32 %	3,98 ± 0,47 %	4,16 ± 0,43
C _{17:0}	0,60 ± 0,09 %	0,18 ± 0,03 %*	0,25 ± 0,05 %*	0,29 ± 0,08 %*
C _{17:1}	1,60 ± 0,24 %	0,30 ± 0,08 %*	0,34 ± 0,06 %*	0,44 ± 0,04 %*
C _{18:0}	13,90 ± 0,56 %	12,10 ± 0,41 %	11,65 ± 0,36 %*	13,70 ± 0,96 %
C _{18:1ω9}	26,14 ± 1,21 %	31,58 ± 1,23 %*	28,21 ± 1,65 %	23,09 ± 1,96 % p ₂ <0,05 p ₃ <0,01
C _{18:2ω6}	14,38 ± 0,79 %	8,11 ± 0,44 %*	8,44 ± 1,14 %*	6,63 ± 0,53 %*
C _{18:3ω3}	1,58 ± 0,13 %	1,28 ± 0,15 %	1,39 ± 0,18 %	1,47 ± 0,06 %
C _{19:0}	-	0,92 ± 0,13 %*	2,99 ± 0,21 %* p ₁ <0,01	-
C _{20:3ω6}	2,41 ± 0,42 %	0,64 ± 0,14 %*	0,60 ± 0,18 %*	0,98 ± 0,17 %*
C _{20:4ω6}	4,66 ± 0,48 %	4,83 ± 0,74 %	4,03 ± 0,48	5,01 ± 0,32 %
C _{20:5ω3}	1,30 ± 0,16 %	0,45 ± 0,07 %*	0,86 ± 0,19 % p ₁ <0,05	1,10 ± 0,20 % p ₃ <0,02
Σ ЖК ω6-серии	21,45 ± 1,02 %	13,58 ± 1,06 %*	13,07 ± 0,57 %*	12,62 ± 0,71 %*
Σ ЖК ω3-серии	2,88 ± 0,30 %	1,73 ± 0,17 %*	2,25 ± 0,20 %	2,57 ± 0,19 %
Σ ЖК с неч. С	2,20 ± 0,16 %	1,40 ± 0,10 %*	3,58 ± 0,24 %* p ₁ <0,001	0,73 ± 0,06 %* p ₂ <0,001 p ₃ <0,01

Примечание: * – значимые различия по сравнению с группой контроля; p₁ – значимые различия между группами А и Б; p₂ – значимые различия между группами Б и В; p₃ – значимые различия между группами А и В.

Несколько иная картина изменений жирнокислотного профиля наблюдается при умеренно- и высокодифференцированном РШМ, характеризующаяся увеличением доли насыщенных ЖК и падением доли полиеновых (рис. 2). При этом регистрируется тенденция к росту первых по направлению от опухолевого очага к периферическим участкам и одинаковое снижение последних. Уровень моноеновых ЖК варьировал во всех группах. Так, их содержание в группе А больше, чем в контрольных образцах, в 1,1 раза, в группе Б – соответствует им, а в образцах В – меньше контрольных показателей в 1,2 раза (рис. 2).

Изменения среди отдельных представителей ЖК представлены в табл. 2. Высокий уровень на-

сыщенных ЖК обусловлен ростом C_{14:0}, C_{16:0} во всех фрагментах тканей и появлением C_{19:0}. Наряду с этим отмечается снижение уровня C_{17:0} во всех образцах по сравнению с контролем – на 70 %, 58,3 % и 51,7 % для групп А, Б и В соответственно и низкое содержание C_{18:0} в участках тканей, граничащих с опухолью.

В составе моноеновых аналогов можно отметить следующие особенности. Уменьшение количества C_{17:1} во всех образцах тканей по сравнению с контрольными показателями – на 81 %, 78,8 % и 72,5 % для групп А, Б и В соответственно. В опухолевом очаге содержание олеиновой кислоты увеличилось по сравнению с контролем на 20,8 %, в группе В этот показатель

уменьшился на 27 % относительно опухолевой ткани.

Дефицит полиеновых ЖК ω -6 серии отмечается во всех образцах. В группах А, Б и В их количество меньше, чем в контроле, на 37 %, 39 % и 41 % соответственно. Эта тенденция характерна для $C_{18:2\omega6}$ и $C_{20:3\omega6}$. Недостаток полиненасыщенных аналогов ω -3 серии наблюдался в опухолевой ткани, что обусловлено, главным образом, снижением показателей эйкозапентаеновой кислоты по сравнению с контролем. Интересно отметить, что количество ЖК с нечетным числом атомов углерода максимально в участках тканей, граничащих с опухолью, и больше, чем в контроле и на периферии.

Заключение

Таким образом, для РШМ с различной степенью дифференцировки общими являются следующие признаки: высокий уровень насыщенных ЖК, главным образом, за счет увеличения количества $C_{14:0}$ и появления нехарактерной для организма человека $C_{19:0}$; повышенное содержание моноеновых ЖК в опухолевой ткани по сравнению с контролем; дефицит полиеновых ЖК ω -6 серии во всех участках тканей; высокий уровень олеиновой кислоты в опухолевом очаге.

Критериями РШМ низкой дифференцировки могут быть: высокий уровень моноеновых ЖК во всех образцах тканей; дефицит полиеновых ЖК ω -3 серий во всех фрагментах; повышенное содержание $C_{18:1}$ в участках тканей, граничащих с опухолью; высокий уровень $C_{17:1}$ и $C_{20:4\omega6}$ в тканях без признаков злокачественного роста; низкое содержание $C_{18:3\omega3}$ в опухолевом очаге и на границе

со здоровыми тканями; повышенное количество $C_{20:3\omega6}$ в опухолевом очаге. Критериями умеренно- и высокодифференцированного РШМ могут быть: большое количество $C_{16:0}$ во всех образцах тканей; дефицит полиненасыщенных аналогов ω -3 серии в опухолевой ткани; низкое содержание $C_{18:0}$ в участках тканей, граничащих с опухолью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель А.М. Статистка злокачественных новообразований женских половых органов // Опухоли женской репродуктивной системы. 2009. № 1–2. С. 76–80.
2. Белокриницкая Т.Е., Пономарева Ю.Н., Ломнева Г.М. и др. Экспрессия С-ERB-B2 при дисплазии и раке шейки матки // Забайкальский медицинский вестник. 2006. № 1. С. 20–38.
3. Голикова О.И., Селиванов Е.В. Современные подходы к цитологическим исследованиям для диагностики дисплазий и рака шейки матки // Вестник лаборатории ДНК-диагностики. 2010. № 3. С. 9–12.
4. Дутов А.А. Настоящее и будущее биомедицинской высокоэффективной жидкостной хроматографии // Забайкальский медицинский вестник. 2008. № 2. С. 50–58.
5. Каюков В.А., Хышиктыев Б.С., Каюкова Е.В. Жирнокислотный спектр опухолевой ткани при поражениях шейки матки // Онкохирургия. 2009. № 1. С. 40–42.
6. Писарева Л.Ф., Бояркина А.П., Каюкова Е.В., Каюкова Т.В. Особенности заболеваемости раком шейки матки населения Читинской области // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 6 (42). С. 42–47.
7. Синяк К.М., Оргель М.Л., Крук В.И. Метод приготовления липидов крови для хроматографического исследования // Лабораторное дело. 1976. № 1. С. 37–41.
8. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Красильников С.Э. Органосохраняющее лечение при инвазивном раке шейки матки // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 2 (44). С. 72–78.
9. Folch J., Less M., Sloane-Stanley A.G.H. // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226. P. 497–509.
10. Franco E.L., Schlecht N.F., Saslow D. The Epidemiology of Cervical Cancer // Cancer J. 2003. Vol. 9 (5). P. 348–359.
11. Jeong B.K., Choi H., Huh S.J. et al. The role of squamous cell carcinoma antigen as a prognostic and predictive factor in carcinoma of uterine cervix // Radiat. Oncol. J. 2011. Vol. 29 (3). P. 191–198.
12. Ostrowska K.M., Malkin A., Meade A. et al. Investigation of the influence of high-risk human papillomavirus on the biochemical composition of cervical cancer cells using vibrational spectroscopy // Analyst. 2010. Vol. 135. P. 3087–3093.

Поступила 25.09.12