

УДК 577.151/.152

О. В. Кочмар, асп., **С. А. Ківан**, асп.,**С. А. Петров**, д-р біол. наук, проф.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра біохімії,

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, тел.: (0482) 68-78-75

ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ЕКЗОГЕННОГО ТІАМІНУ НА ЙОГО ВМІСТ У ТКАНИНАХ НОВОУТВОРЕНЬ ЯЄЧНИКІВ

Найбільший вміст загального тіаміну та тіамінфосфатів серед розглянутих мітохондріальних фракцій тканин спостерігається в зразках без новоутворень, найменший — в кісті жовтого тіла з крововиливом. Вивчення впливу різних концентрацій екзогенного тіаміну на вміст вільної та загальної форми цього вітаміну в тканинах новоутворень яєчників свідчить, що ці показники значною мірою залежать від особливостей новоутворень.

Ключові слова: обмін тіаміну, яєчник, пухлина.

Клінічні спостереження та біохімічні дослідження свідчать про те, що патологічні процеси в організмі супроводжуються в тій чи іншій мірі порушеннями метаболізму вітамінів, які обумовлені як екзогенними, так і ендогенними причинами. Серед них значне місце посідає ендогенна форма вітамінного дефіциту, що пов'язано з порушеннями метаболізму, особливо білкового обміну. При цьому створюються умови для полівітамінної недостатності організму, яка сприяє порушенню синтезу ферментів, гормонів, імунних тіл [1–8]. Тому останнім часом широко досліджується неспецифічна фармакодинамічна дія вітамінів, зокрема у складі лікарських препаратів, що застосовуються за численних патологій, в тому числі за пухлиноутворення [9–11].

Одним з маловивчених питань біохімії є питання про вміст різних вітамінів, в тому числі й тіаміну, в клітинах пухлин та особливості метаболізму цих сполук в новоутвореннях. Встановлено наявність дисбалансу заліза та порушення метаболізму вітамінів групи В при злоякісних новоутвореннях [11], виявлено зміни кількісного взаємовідношення між тіаміном та нікотиною кислотою у хворих раком сечового міхура [12]. Введення комплексу вітамінів з глюкозою викликає позитивний клінічний ефект, що супроводжується нормалізацією процесів обміну та зростанням захисних сил організму до пухлинного росту у більшості хворих з поширеною формою раку шлунка [13]. Однак, у світовій літературі нами не виявлено досліджень, присвячених вивченню метаболізму тіаміну за онкопатології тканин яєчників у жінок.

Мета даної роботи — вивчити вплив різних концентрацій екзогенного тіаміну на вміст різних форм цього вітаміну, а також на їх співвідношення в неураженій та трансформованій тканинах яєчників.

Матеріали і методи

Досліджували гомогенати неураженої тканини яєчників, а також зразки новоутворень яєчників: кісти жовтого тіла з крововиливом, помірнодиференційованої цистаденоми, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували доопераційного медикаментозного лікування. Патоморфологічні діагнози були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ: визначали морфологічний стан пухлинної тканини і ступінь диференціації клітин злоякісного новоутворення [14].

Тканину (0,1 г) гомогенізували в 0,9 % розчині NaCl у співвідношенні 1:10. До отриманого гомогенату додавали 0,2 мл розчину тіаміну до кінцевих концентрацій: 0,015, 0,075, 0,150, 0,750, 1,500 ммоль. Проби витримували в термостаті при 37°C протягом години, потім центрифугували при 12000 g (+4°C) протягом 45 хвилин і два рази промивали. В осадах визначали вміст вільного та загального тіаміну. За різницею між загальним та вільним тіаміном за необхідності визначали зв'язаний тіамін.

Визначення вільного та загального тіаміну у тканинах провадили тіохромним методом Г. Д. Єлисеєвої [15], який базується на визначенні продукту реакції окиснення тіаміну у лужному середовищі — тіохрому — під дією червоної кров'яної солі. Продукт реакції (тіохром) дає синьо-голубу флуоресценцію, з максимумом 370 нм, інтенсивність якої пропорційна концентрації флуоресціюючої речовини. Загальний тіамін визначали з використанням кислоти фосфатази, за визначення вільного тіаміну цей фермент не додавали.

Статистичну достовірність відмінностей визначали за допомогою критерія Ст'юдента [16].

Результати та їх обговорення

За наявністю кісти жовтого тіла з крововиливом (табл. 1, рис. 1, а) найбільший вміст вільної форми тіаміну спостерігався за додання до гомогенату препарату тіаміну до концентрації 0,750 ммоль, а найбільший вміст загального — за додання препарату до 1,500 ммоль. За наявності в гомогенаті інших концентрацій доданого вітаміну спостерігалось збільшення вмісту як загального від 349 до 698 пмоль тіаміну на г тканини, так і вільного — від 216 до 565 пмоль тіаміну на г тканини.

Особливе значення має співвідношення вільної до загальної форм тіаміну в тканинах. Воно вказує на частку метаболічно-активного тіаміну у загальному його вмісті. Аналізуючи значення цього

Таблиця 1
Вміст вільної та загальної форм тіаміну в тканинах яєчника за деяких патологій при доданні екзогенного вітаміну

Пагоморфологічний критерій	n	Форма тіаміну	Концентрації тіаміну в інкубаційному середовищі (ммоль)				
			0,015	0,075	0,150	0,750	1,500
Кіста жовтого тіла з крововиливом	37	Вільна	216 ± 20*	373 ± 36	565 ± 54	1166 ± 107	1133 ± 106*
		Загальна	349 ± 33*	448 ± 42*	698 ± 68	1483 ± 125	1981 ± 188
		Співвідношення вільна/загальна	0,620	0,832	0,810	0,787	0,572
Помірнодиференційована цистаденома яєчника	23	Вільна	248 ± 22*	250 ± 23*	396 ± 38*	1200 ± 131	1525 ± 163*
		Загальна	1750 ± 166	1200 ± 105	1746 ± 172*	1297 ± 124	2496 ± 244
		Співвідношення вільна/загальна	0,142	0,209	0,227	0,925	0,611
Тканина без новоутворень	26	Вільна	387 ± 37	348 ± 34	612 ± 60	1362 ± 127	2241 ± 216
		Загальна	1973 ± 185	1462 ± 136	648 ± 62	1557 ± 139	2417 ± 262
		Співвідношення вільна/загальна	0,196	0,239	0,945	0,875	0,927

Примітка: * — $p < 0,05$.

Таблиця 2
Вміст білка та різних форм тіаміну в мітохондріальній фракції тканин яєчника за деяких патологій

Пагоморфологічний критерій	n	Концентрація білка, мг/г тканини	Концентрація загального тіаміну, мкмоль/г тканини	Концентрація вільного тіаміну, мкмоль/г тканини	Концентрація тіамінфосфатів, мкмоль/г тканини
Кіста жовтого тіла з крововиливом	37	231 ± 24	3393 ± 339*	2381 ± 240	822 ± 80*
Помірнодиференційована цистаденома яєчника	23	226 ± 20	7679 ± 766*	1667 ± 167*	5929 ± 593*
Тканина без новоутворень	26	183 ± 17	16071 ± 1606	2417 ± 238	13571 ± 1358

співвідношення у разі зазначеної патології (рис. 2, а) нами встановлено, що воно практично не змінюється за додання до гомогенату препарату тіаміну до концентрацій від 0,075 до 0,750 ммоль.

За помірnodиференційованої цистаденоми яєчника (рис. 1, б) достовірне підвищення загальної форми встановлено у випадку 1,500 ммоль екзогенного тіаміну, а вільної — за 0,150 ммоль. Співвідношення вільної до загальної форм тіаміну у разі цієї патології (рис. 2, б) практично не змінюється в межах концентрацій від 0,015 до 0,150 ммоль і було максимальним за 0,750 ммоль. Подальше підвищення концентрації призводить до зниження співвідношення цих форм.

Щодо тканини без новоутворень, то нами було встановлено (рис. 1, в), що в межах концентрацій від 0,150 до 1,500 ммоль екзогенного тіаміну вміст як вільної, так і загальної форм поступово підвищувався, і показники обох форм були практично однаковими. Проте за незначних концентрацій — 0,015 та 0,075 ммоль екзогенного тіаміну — вміст вільної форми не змінювався, в той час як істотно (в 4 рази) зменшувався вміст загальної форми. Співвідношення обох форм (рис. 2, в) практично не змінюється за малих концентрацій (0,015 та 0,075 ммоль), як і у випадку помірnodиференційованої цистаденоми яєчника (рис. 2, б), і має максимальні значення, незалежні від концентрацій екзогенного тіаміну, починаючи з 0,150 ммоль.

Нами встановлено, що невисокі концентрації екзогенного тіаміну (0,015 та 0,075 ммоль) практично не впливають на вміст вільної та загальної форм тіаміну в тканині без новоутворень, а також за наявності доброякісної та злоякісної патологій яєчника. Подальше підвищення концентрації екзогенного тіаміну практично не впливає на вміст обох форм ендogenous тіаміну в зразках тканини без новоутворень, але підвищує ці показники в тканині помірnodиференційованої цистаденоми яєчника.

Для тканини без новоутворень додавання екзогенного тіаміну до концентрацій від 0,015 до 0,075 ммоль призводить до підвищення концентрації активної форми тіаміну. Ми спостерігали, що за наявності екзогенного тіаміну в пробах від 0,150 ммоль до 1,500 ммоль ендogenous тіамін у тканині переважно знаходиться у вільній формі. За доброякісної форми новоутворення додання екзогенного тіаміну призводить до того, що практично весь ендogenous тіамін представлений вільною формою, кількість якої змінюється в залежності від концентрації екзогенного тіаміну.

Дослідження співвідношення вільної та загальної форм тіаміну у тканинах новоутворень яєчників показали, що ці показники значною мірою залежать від виду новоутворення; чим більше це співвідношення, тим менш інтенсивно ідуть у відповідних тканинах метаболічні процеси. Цей факт пов'язаний з більшою метаболічною активністю клітин злоякісних новоутворень порівняно з клітинами неущкодженої тканини.

Вплив екзогенного тіаміну на його вміст в новоутвореннях яєчників

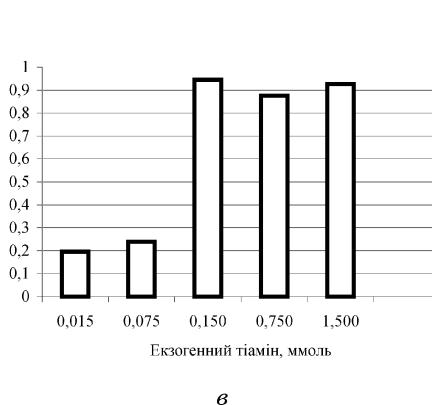
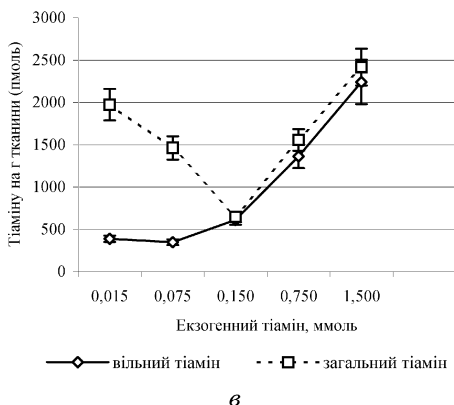
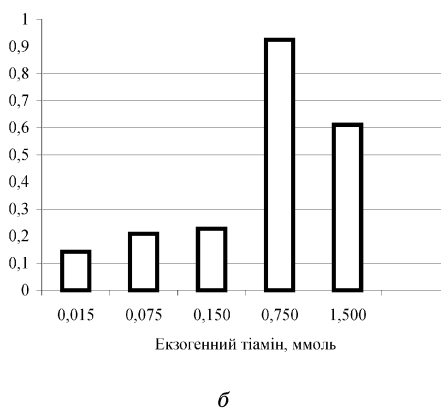
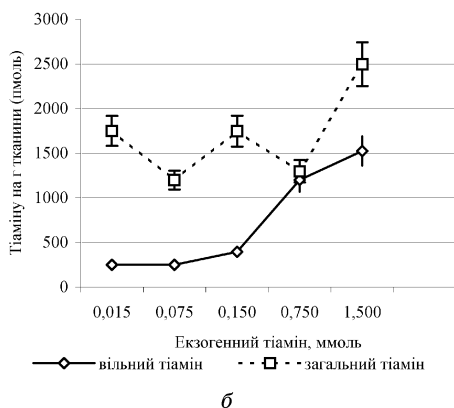
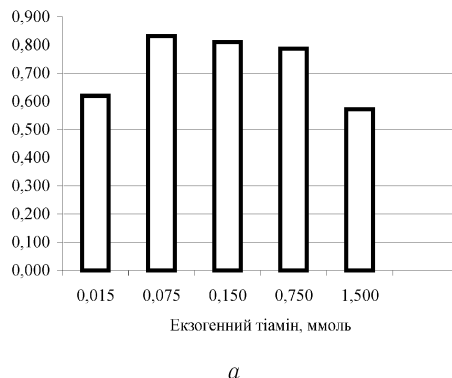
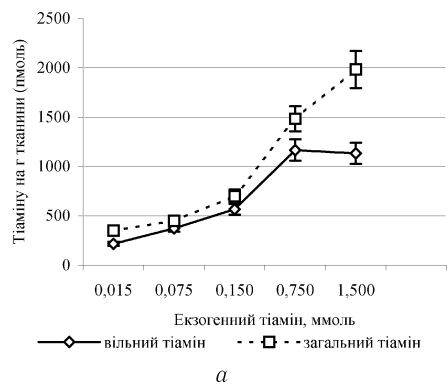


Рис. 1. Вміст вільного та загального тіаміну в тканинах яєчника за додання екзогенного вітаміну

Рис. 2. Співвідношення вільний/загальний тіамін в тканинах яєчника за додання екзогенного вітаміну

a — кіста жовтого тіла з крововиливом;
б — помірнодиференційована цистаденома яєчника;
в — тканина без новоутворень

a — кіста жовтого тіла з крововиливом;
б — помірнодиференційована цистаденома яєчника;
в — тканина без новоутворень

Що стосується концентрації білка у мітохондріальній фракції, то вона практично не відрізняється в зразках тканини без новоутворень, кісти жовтого тіла з крововиливом та помірnodиференційованої цистаденоми яєчників. Це опосередковано може свідчити про однаковий кількісний вміст мітохондрій у цих зразків тканин.

Встановлено, що концентрація загального тіаміну найбільша в тканині без новоутворень, а при кісті жовтого тіла з крововиливом та помірnodиференційованій цистаденомі яєчників знижується в 4,7 та 2 рази відповідно. Концентрація вільного тіаміну при помірnodиференційованій цистаденомі яєчників в 1,4 разів нижча, ніж в тканині без новоутворень та при кісті жовтого тіла з крововиливом. Що стосується співвідношень вільної та активної форми вітаміну, то тканині без новоутворень 15% тіаміну представлено вільною формою та 85% — активною формою. Доля вільного тіаміну в тканині злоякісного новоутворення більша, ніж у тканині без новоутворень і складає 22%, доля активної форми — тіамінфосфатів — 78%, що свідчить про існування активного процесу фосфорилування як в мітохондріальній фракції тканини без новоутворень, так і в мітохондріальній фракції помірnodиференційованої цистаденоми яєчників. В той же час в тканині кісти жовтого тіла з крововиливом це співвідношення зміщується не так у бік активної форми — тіамінфосфатів, на долю яких приходиться 30%, як у бік вільного тіаміну, частина якого складає 70%, незважаючи на те, що концентрація вільного тіаміну в обох досліджуваних зразках практично не відрізняється. На нашу думку, різниця у вмісті вільного та загального тіаміну може бути обумовлена різними причинами, наприклад змінами кількості органел, проникливості мембран до тіаміну, активності тіамінметаболізуючих ферментів та іншими факторами.

Таким чином, збільшення вмісту загального тіаміну відбувається за рахунок зв'язаної форми тіаміну. В процесі трансформації клітин відбувається значне зниження кількості зв'язаної форми тіаміну, що, на нашу думку, пов'язано з порушенням процесів біотрансформації в клітинах новоутворень некоферментної форми вітаміну в коферментну форму. Саме тому ми спостерігаємо значно меншу кількість загальної форми тіаміну та відповідне збільшення вільної. Це кореспондується з добре відомим явищем значного активування метаболізму у тканинах за умов виникнення новоутворень, що призводить до збільшення потреби цих тканин у вітамінах, у тому числі — у тіаміні.

Висновки

1. У тканинах новоутворень яєчників показники вмісту вільної та загальної форм тіаміну значною мірою залежать від виду новоутворення.

2. Злоякісні новоутворення характеризуються найбільш інтенсивними процесами метаболізму, тому містять значну кількість зв'язаної форми тіаміну.

3. Концентрація білка у мітохондріальній фракції практично не відрізняється в зразках тканини без новоутворень, кісти жовтого тіла з крововиливом та помірnodиференційованої цистаденоми яєчника.

4. Найбільша концентрація загального тіаміну у мітохондріальній фракції спостерігається в зразках тканини без новоутворень, а найменша — у кісті жовтого тіла з крововиливом.

5. Концентрація вільного тіаміну у тканинах помірnodиференційованої цистаденоми яєчників дещо нижча, ніж у кісті жовтого тіла з крововиливом та в тканині без новоутворень.

6. Найбільша концентрація активних форм тіаміну — тіамінфосфатів — у мітохондріальній фракції спостерігається в тканині без новоутворень, найменша — в тканині кісти жовтого тіла з крововиливом.

Література

1. Singleton C. K., Martin P. R. Molecular mechanisms of thiamine utilization // *Curr. Mol. Med.* — 2001. — Vol. 1, № 2. — P. 197–207.
2. Тищенко Л. Д., Хаддад С. М., Тищенко А. Л. и др. Статус тиаміна у больных красной волчанкой // *Вестник дерматологии и венерологии.* — 2000. — № 3. — С. 23–25.
3. Бучина О. В., Тищенко Л. Д., Долгов Н. А. и др. Статус тиаміна и пиридоксина у больных красной волчанкой // *Вестн. последиплом. мед. образ.* — 2002. — № 1. — С. 39.
4. 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.
5. Нарисава Кунаки. Молекулярные основы врожденных нарушений метаболизма, связанных с витаминами // *Витамины.* — 1999. — Т. 73, № 10. — С. 591–597.
6. Staneva-Dobrovski L. Thiamine pyrophosphatase cytochemistry in rat endometrium during the oestrous cycle // *Histochemistry.* — 1994. — Vol. 102, N 2. — P. 129–144.
7. Endo M, Yosizawa Z. Biosynthesis of sulfated glycoprotein in the endometrium of rabbit uterus // *J. Biochem.* — 1976. — Vol. 79, N 2. — P. 293–298.
8. Basu TK, Dickerson JW. The thiamin status of early cancer patients with particular reference to those with breast and bronchial carcinomas // *Oncology.* — 1976. — Vol. 33, N 5–6. — P. 250–252.
9. Дурнев А. Д., Микитина В. А., Вржесинская О. А. и др. Влияние приема витаминов на чувствительность лимфоцитов периферической крови к кластогенному действию мутагеном *in vitro* // *Бюлетень экспериментальной биологии и медицины.* — 2002. — Т. 134, № 9. — С. 303–307.
10. Дзюбка Н. Я., Миляновский А. И., Чеботарев Е. Е. Витамины в комплексном лечении онкологических больных. — Киев: Наук. думка. — 1987. — 128 с.
11. Опарин Д. А., Мухаев В. Д., Вильчевская В. Д. и др. Синтез и противоопухолевая активность производных витамина В₁, содержащих ферроценовый фрагмент // *Химико-фармацевтический журнал.* — 1996. — Т. 30, № 2. — С. 11–13.
12. Квирикадзе Н. А. Корреляция между некоторыми витаминами группы "В" и дискриминантная оценка обмена этих витаминов у больных раком мочевого пузыря // *Вопросы клинической и экспериментальной урологии.* — 1976. — Т. 11. — С. 149–159.
13. Егоров Н. И. Транспортальное введение глюкозы и витаминов при распространенном раке желудка // *Вопросы онкологии.* — 1972. — Т. 18, № 4. — С. 85–87.

14. Всемирная Организация Здравоохранения // Материалы ежегодных отчетов. — С.Пб. — 1981. — 286 с.
15. Елисеева Г. Д. Флуориметрическое определение тиамин, кокарбоксылазы и рибофлавина в биологических объектах // Витамины. — 1953. — Т. 1. — С. 38–57.
16. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высшая школа. — 1967. — 326 с.

О. В. Кочмар, С. А. Киван, С. А. Петров

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра биохимии,
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина, e-mail: olesyabioshim@rambler.ru

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЭКЗОГЕННОГО ТИАМИНА НА ЕГО СОДЕРЖАНИЕ В ТКАНЯХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЯИЧНИКОВ

Резюме

Наибольшее содержание общего тиамин и тиаминфосфатов среди рассмотренных митохондриальных фракций тканей наблюдается в образцах без новообразований, а наименьшее — в кисте желтого тела с кровоизлиянием. Изучение влияния различных концентраций экзогенного тиамин на содержание свободной и общей форм этого витамина в тканях новообразований яичников показало, что эти параметры в значительной мере зависят от вида новообразования.

Ключевые слова: обмен тиамин, яичник, опухоль.

O. V. Kochmar, S. A. Kivan, S. A. Petrov

Odessa National I. I. Mechnikov University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: olesyabioshim@rambler.ru

THE INFLUENCE OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF EXOGENIC THIAMINE ON ITS CONTENT IN OVARIUM MALIGNANT TISSUES

Summary

The investigation of various concentrations of exogenic thiamine effect on its free and common forms, revealed in ovarium malignant tissues, demonstrated that these parameters depend on the species of malignization in large degree. Malignant tissues accumulate the great amounts of metabolically active thiamine comparatively with normal tissues.

Keywords: thiamine metabolism, ovarium, tumor.