

УДК 577.125

**ФОСФОЛИПИДНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ
СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ**

© Е.В. Балавина, Т.А. Веселова, А.М. Патрина, А.П. Веселов, И.Е. Окрут

Традиционное отношение к липидам только как к источникам энергии и структурным компонентам клеточных мембран существенным образом ограничивает горизонт исследований общей системы регуляции организма, в которой липиды играют важную роль. Фосфолипиды – основной компонент биологических мембран и одновременно источник биоэффektorных липидов.

В последнее время проводятся многочисленные исследования в области биохимии онкологического процесса. Согласно данным литературы, фосфолипиды и ферменты их метаболизма могут являться как маркерами наличия опухолей, так и эффективности проводимой терапии. Изменения обмена фосфолипидов в организме с опухолью, по всей видимости, могут отражать степень паранеопластического воздействия опухоли на организм.

В представленной работе проведена сравнительная оценка состава и соотношения отдельных классов фосфолипидов плазмы крови онкологических больных с опухолями различной локализации, которые отличаются по степени проявления их системного воздействия на организм, а также практически здоровых доноров (контроль). Соотношения отдельных фракций фосфолипидов в биосубстратах, в частности, лизофосфатидилхолина к фосфатидилхолину, фосфатидилэтаноламина к фосфатидилхолину, могут косвенно свидетельствовать об интенсивности метаболизма фосфолипидов и степени их окисления. В плазме крови онкологических больных со злокачественными опухолями молочной железы, легкого и головного мозга показано смещение равновесия фосфатидилхолин – лизофосфатидилхолин в сторону снижения лизофосфатидилхолина и накопления фосфатидилхолина по сравнению с контролем. В плазме крови больных со злокачественными новообразованиями молочной железы и легкого снижается содержание фосфатидилэтаноламина, а также соотношение фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина по сравнению с показателями плазмы практически здоровых доноров. Уровень сфингомиелина в крови больных со злокачественными опухолями молочной железы, легкого и головного мозга не отличается от такового в контроле.

Соотношение отдельных фракций фосфолипидов в плазме крови онкологических больных, в частности, индекс лизофосфатидилхолин/фосфатидилхолин, по всей видимости, может иметь определенное значение в комплексной диагностике онкологических заболеваний.

Ключевые слова: фосфолипиды, злокачественные новообразования, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, сфингомиелин, лизофосфатидилхолин.

Введение. Несмотря на огромное количество исследований, до сих пор недостаточно изучена роль различных биологически активных молекул в патогенезе опухолевого роста [1]. Особенно ощущается недостаток знаний о роли и уча-

стии липидов в неопластогенезе. Традиционное отношение к липидам только как к источникам энергии и структурным компонентам клеточных мембран существенным образом ограничивает горизонт исследований общей системы регуляции

БАЛАВИНА Елена Вячеславовна, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: balavina.elena@yandex.ru

ВЕСЕЛОВА Татьяна Анатольевна – к.б.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Veselova-TA@yandex.ru

ПАТРИНА Алла Михайловна, Городская клиническая больница № 5, e-mail: patrina.alla66@mail.ru

ВЕСЕЛОВ Александр Павлович – д.б.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: veselov@ibbm.unn.ru

ОКРУТ Ирина Евгеньевна – к.б.н., Нижегородская государственная медицинская академия, e-mail: irina-okrut@yandex.ru

организма, в которой липиды играют весьма важную роль [2].

Липиды крови, в частности, фосфолипиды и продукты их метаболизма могут являться маркерами как наличия опухолей в организме, так и эффективности проводимой терапии. Изменения обмена фосфолипидов в организме с опухолью, по всей видимости, могут отражать степень паранеопластического воздействия опухоли на организм [3].

Цель представленной работы – сравнительная оценка состава фосфолипидов плазмы крови онкологических больных с опухолями различной локализации, которые отличаются по степени проявления их системного воздействия на организм.

Материалы и методы. Клиническая часть работы была выполнена на базе областной больницы им. Семашко и ГБУЗ НО «ГКБ №5». Объектом исследования служила плазма крови больных со злокачественными новообразованиями молочной железы (РМЖ) (21 образец), опухолью головного мозга (ОГМ) (21 образец), раком легкого (РЛ) (23 образца) с гистологически подтвержденным диагнозом заболеваний. На основании клинико-инструментального обследования больных и с учетом постхирургической классификации опухолей у больных установлены II и III стадии заболевания. Для обследования были взяты пациенты среднего возраста. Контролем служила плазма практически здоровых доноров (22 образца) сопоставимого возраста.

Экстракцию липидов проводили методом Фолча. Для разделения смеси липидов использовали пластины с тонким (100 мкм) слоем силикагеля СТХ – 1ВЭ «Sorbfil». Перед использованием пластинки очищали в смеси растворителей хлороформ:метанол:вода в соотношении 65:25:4, затем активировали 30 мин при температуре 100–

110°C для удаления воды и увеличения адсорбционной способности силикагеля.

Для разделения липидов использовали систему растворителей хлороформ:метанол:вода в соотношении 65:25:4. Для качественного анализа фосфолипидов полученные хроматограммы окрашивали 10%-м раствором фосфорномолибденовой кислоты в 96%-м этаноле. После нагревания пластинок до 80–90°C зоны липидов окрашивались в темно-синий цвет на желто-зеленом фоне. По значению Rf и с помощью фосфолипидов-свидетелей (1%-е растворы фосфатидилхолина, сфингомиелина фирмы SIGMA) идентифицировали отдельные фракции фосфолипидов в образцах плазмы крови.

Для количественной оценки относительного содержания фосфолипидов пластинки, обработанные фосфорномолибденовой кислотой, сканировали. Затем при использовании программы One – Dscan Version 1.3 оценивали относительное содержание каждой фракции (%).

Достоверность отличий содержания фракций фосфолипидов в плазме крови пациентов с опухолями головного мозга, молочной железы, легкого и практически здоровых доноров оценивали с использованием критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений [4]. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты. В представленной работе в плазме крови были идентифицированы следующие фракции фосфолипидов: фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилхолин (ФХ), сфингомиелин (СМ) и лизофосфатидилхолин (ЛФХ) (табл. 1).

Показаны достоверное снижение содержания ЛФХ в плазме крови пациентов с опухолью головного мозга и тенденции к снижению содержания лизофосфолипидов в плазме больных раком

Т а б л и ц а 1

Содержание отдельных фракций фосфолипидов в плазме крови пациентов с опухолями различной локализации и практически здоровых доноров (контроль)

Группа	ЛФХ	СМ	ФХ	ФЭА
Контроль	6.53±0.69	8.30±0.77	71.40±2.01	12.56±0.89
РМЖ	5.71±0.18	5.67±0.73	74.37±1.96	6.65±1.57*
ОГМ	4.25±0.40*	6.98±0.84	74.09±1.60	12.02±0.94
РЛ	5.80±0.70	8.66±0.98	76.37±1.35*	7.67±0.75*

* – Различия статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0.05$).

молочной железы и легкого по сравнению с показателем практически здоровых доноров (контроль). Напротив, уровень фосфатидилхолина достоверно повышается в плазме крови больных раком легкого по сравнению с показателями плазмы крови практически здоровых доноров, а в плазме крови больных со злокачественными новообразованиями молочной железы и головного мозга наблюдается тенденция к накоплению фосфатидилхолина по сравнению с контролем.

Анализ результатов об уровне лизофосфатидилхолина в крови онкологических больных при ряде других злокачественных новообразований (опухоль желудочно-кишечной и почечной локализации, лейкемия, лимфобластома) показывает, что содержание лизофосфолипида уменьшается при развитии опухоли и ее метастазировании. Понижение уровня лизофосфатидилхолина в плазме крови больных коррелирует со стадией заболевания, метастазами, потерей веса и параметрами, характеризующими воспалительные процессы [3]. Низкое содержание лизофосфатидилхолина в плазме онкологических больных объясняется быстрым оборотом фосфатидилхолинового цикла, утилизацией лизофосфатидилхолина в биосинтезе фосфатидилхолина и катаболическим распадом лизофосфатидилхолина до фосфохолина и глицерофосфохолина, что служит индикатором развития злокачественных новообразований [5].

Обнаружено существенное изменение метаболизма фосфатидилхолина при малигнизации клеток. В опухоли по сравнению с нормальной тканью достоверно увеличивается количество метаболитов фосфатидилхолина – холина, его фосфата и глицерофосфохолина. Если фосфохолин является предшественником в биосинтезе фосфатидилхолина, то глицерофосфопроизводное холина – относительно редкий метаболит для нормальных тканей. Фосфатидилхолин и его производные накапливаются в кровотоке [6].

В представленной работе в крови больных со злокачественными новообразованиями молочной железы и легкого отмечено достоверное снижение содержания ФЭА по сравнению с показателем в плазме крови практически здоровых доноров. ФЭА относится к липидам, богатым ненасыщенными жирными кислотами (НЖК), которые являются субстратом для свободно-радикально-

го окисления. Таким образом, снижение ФЭА, обнаруженное в плазме крови больных со злокачественными новообразованиями легкого и молочной железы может быть связано с окислением этой фракции, либо с распадом фосфатидилэтанолamina до конечных метаболитов.

Сфингомиелин – трудноокисляемая фракция, которая в метаболическом отношении отличается от других фракций наименьшей скоростью обмена в мембране [7]. Уровень СМ в крови больных с исследованными патологиями не отличается от такового в контроле.

Об интенсивности метаболизма фосфолипидов и степени их окисления могут косвенно свидетельствовать соотношения отдельных фракций фосфолипидов в биообразцах, в частности, ФЭА/ФХ, ЛФХ/ФХ [8].

ЛФХ плазмы образуется при воздействии на ФХ секреторной фосфолипазы A_2 . Таким образом, о степени окисления ФХ можно судить по количеству в плазме лизофосфатидилхолина и индексу ЛФХ/ФХ [8]. В представленной работе снижение индекса ЛФХ/ФХ характерно для плазмы крови пациентов со всеми исследованными типами злокачественных новообразований по сравнению с контролем. Наиболее выраженные изменения индекса ЛФХ/ФХ наблюдаются у пациентов с опухолями молочной железы (рис. 1).

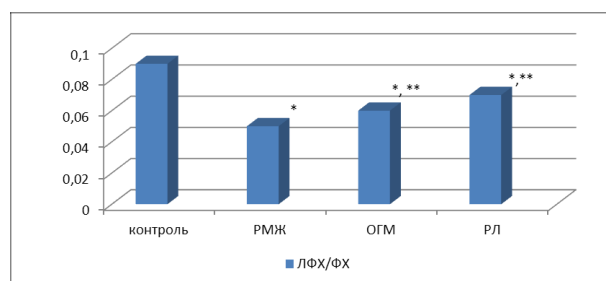


Рис. 1. Индекс ЛФХ/ФХ в плазме крови пациентов с опухолями головного мозга, раком молочной железы, раком легкого и практически здоровых доноров. * – Различия статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0.05$). ** – Различия статистически значимы по отношению к показателям плазмы при раке молочной железы ($p < 0.05$)

Индекс ФЭА/ФХ отражает соотношение легко окисляемых фосфолипидов, богатых ненасыщенными жирными кислотами (ФЭА), к трудноокисляемым липидам (ФХ).

Наблюдается тенденция к снижению индекса ФЭА/ФХ в плазме крови пациентов с опухолью головного мозга и достоверное снижение индекса в плазме крови больных раком легкого и молочной железы по сравнению с показателями в плазме крови практически здоровых доноров (рис. 2).

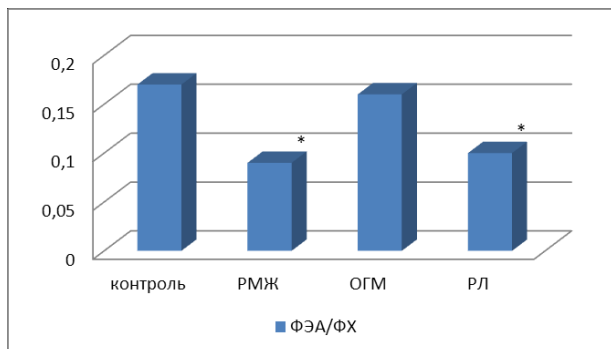


Рис. 2. Индекс ФЭА/ФХ в плазме крови пациентов с опухолями головного мозга, раком молочной железы, раком легкого и практически здоровых доноров.

* – Различия статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0.05$)

В последнее время данные об изменении фосфолипидов в крови достаточно противоречивы. По всей видимости, именно соотношение отдельных фракций фосфолипидов может иметь определенное значение в комплексной диагностике онкологических заболеваний.

Литература

1. Ганцев Ш.К. Онкология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. 488 с.
2. Нельсон Д., Кох М. Основы биохимии Ленинджера. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. 693 с.
3. Безуглов А.Е., Коновалов С.С. Липиды и рак. Очерки липидологии онкологического процесса. СПб.: Прайм-Еврознак, 2009. 352 с.
4. Гланц С. Медико-биологическая биостатистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
5. Taylor L.A., Arends J., Hodina A.K., Unger C. et al. Plasma lyso-phosphatidylcholine concentration is decreased in cancer patients with weight loss and activated inflammatory status // *Lipids Health Disease*. 2007. V. 6.

P. 17–24; Taketo M.M., Sonoshita M. Phospholipase A₂ and apoptosis // *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. V. 1585. P. 72–76.

6. Glunde K., Serkova N. J. Therapeutic target and biomarkers identified in cancer choline phospholipid metabolism // *Pharmacogenomics*. 2006. V. 7. P. 1109–1123.

7. Kitatani K., Taniguchi M., Okazaki T. Role of Sphingolipids and Metabolizing Enzymes in Hematological Malignancies // *Mol Cells*. 2015. № 38(6). P. 482–95.

8. Хышиктуев Б.С., Хышиктуева Н.А., Иванов В.Н., Даренская С.Д. Фосфолипиды мембран при раке // *Вопросы онкологии*. 1993. Т. 4, № 3. С. 7–39.

References

1. Gantsev Sh.K. Oncology. Uchebnik dlya studentov meditsinskikh vuzov. Moscow, Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2006. 488 p.

2. Nelson D., Cox M. Lehninger principles of biochemistry. Russian Edition: Osnovy biokhimii Leninzhera. Moscow, Binom. Laboratoriya znaniy, 2011. 693 p.

3. Bezuglov A.E., Kononov S.S. Lipids and cancer. Essays on lipidology of the oncology process. St. Petersburg, Praym-Evroznak, 2009. 352 p.

4. Glantz S. Primer of biostatistics. Russian edition: Mediko-biologicheskaya biostatistika. Moscow, Praktika, 1999. 459 p.

5. Taylor L.A., Arends J., Hodina A.K., Unger C., Massing U. Plasma lyso-phosphatidylcholine concentration is decreased in cancer patients with weight loss and activated inflammatory status. *Lipids Health Disease*, 2007, vol. 6, pp. 17–24; Taketo M.M., Sonoshita M. Phospholipase A₂ and apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, vol. 1585, pp. 72–76.

6. Glunde K., Serkova N.J. Therapeutic targets and biomarkers identified in cancer choline phospholipid metabolism. *Pharmacogenomics*, 2006, vol. 7, pp. 1109–1123.

7. Kazuyuki Kitatani, Makoto Taniguchi, Toshiro Okazaki. Role of sphingolipids and metabolizing enzymes in hematological malignancies. *Mol. Cells*, 2015, vol. 38 (6), pp. 482–495. [PubMed]

8. Khyshiktuev B.S., Khyshiktueva N.A., Ivanov V.N., Darenkaya S.D. Membrane phospholipids in cancer. *Voprosy onkologii*, 1993, vol. 4, no. 3, pp. 7–39.



BLOOD PLASMA PHOSPHOLIPID ADJUSTMENT IN PATIENTS WITH MALIGNANT TUMORS OF DIFFERENT LOCALIZATION

© **E.V. Balavina¹, T.A. Veselova¹, A.M. Patrina², A.P. Veselov¹, I.E. Okrut³**

¹Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky
23, prospekt Gagarina, 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation

²City Clinical Hospital No. 5
34, ulitsa Nesterova, 603005, Nizhny Novgorod, Russian Federation

³Nizhny Novgorod State Medical Academy
10/1, pl. Minina i Pozharskogo, 603005, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Traditional attitudes to lipids as to energy sources and structural components of cell membranes significantly limit the horizon of research of the overall regulation system of the organism in which lipids play a very important role.

Phospholipids are a major component of biological membranes and at the same time they are the source of bioeffector lipids.

Recently multiple studies in the field of biochemistry of the cancer process have been conducted.

According to the literature lipids and enzymes of their metabolism, in particular, phospholipids and their isoforms may be a marker of the presence of tumors as well as the efficiency of the therapy.

Changes in the metabolism of phospholipids in the body with the malignant tumor, apparently, can reflect the degree of paraneoplastic effects of tumor the body.

In this work there is a comparative analysis of the composition and the ratio of individual classes of phospholipids in blood plasma of cancer patients with tumors of different localization which differ in the degree of manifestation of their systematic effects on the body, and also analysis of these parameters of blood plasma of practically healthy donors.

The ratio of individual fractions of phospholipids in biological substrates, in particular, lysophosphatidylcholine to phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine to phosphatidylcholine, can indirectly indicate the intensity of the metabolism of phospholipids and the degree of their oxidation.

In the blood plasma of cancer patients with malignant tumors of the breast, lung and brain was the displacement of the equilibrium of phosphatidylcholine – lysophosphatidylcholine in the direction of reducing of lysophosphatidylcholine and the accumulation of phosphatidylcholine in comparison with controls.

In the plasma of patients with breast and lung cancer content of phosphatidylethanolamine was reduced as well as the ratio of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine in comparison with these parameters of blood plasma of practically healthy donors.

The level of sphingomyelin in the blood of patients with malignant tumors of the breast, lung and brain remained almost unchanged in comparison with that in controls.

The ratio of individual fractions of phospholipids in blood plasma of cancer patients, in particular, the index of the lysophosphatidylcholine/phosphatidylcholine, apparently, can have a certain value in the complex diagnosis of cancer.

Key words: phospholipids, malignant tumors, phosphatidylethanolamine(PHEA), phosphatidylcholine (PHCH), sphingomyelin (SM), lysophosphatidylcholine (LPHCH).