

УДК 616.155.32-06:616.71-007.152

## ОСОБЕННОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ АКТИВНОЙ АКРОМЕГАЛИЕЙ

<sup>1</sup>Дудина М.А., <sup>1</sup>Догадин С.А., <sup>2</sup>Савченко А.А.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, e-mail: rector@krasgmu.ru;  
<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск, e-mail: impn@impn.ru

Исследованы особенности метаболизма лимфоцитов у больных активной акромегалией. Состояние ряда основных метаболических процессов в лимфоцитах крови при активной стадии акромегалии характеризуется низкой интенсивностью наработки интермедиатов для реакций макромолекулярного синтеза и аэробных процессов при снижении активности глутатион-зависимой антиоксидантной системы. Наряду с этим при активной стадии заболевания происходит разобщение между повышенным окислением субстратов в цикле Кребса и интенсивностью фосфорилирования АДФ, приводящее к пониженному образованию АТФ и недостаточности клеточного дыхания. Установленные изменения внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при активной акромегалии, несомненно, соответствуют нарушению функциональной реактивности клеток иммунной системы и могут являться метаболической основой для развития онкологических осложнений акромегалии.

**Ключевые слова:** акромегалия, лимфоциты, дегидрогеназы, внутриклеточный метаболизм

## THE INTRACELLULAR METABOLISM FEATURES OF BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ACTIVE ACROMEGALY

<sup>1</sup>Dudina M.A., <sup>1</sup>Dogadin S.A., <sup>2</sup>Savchenko A.A.

<sup>1</sup>Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, e-mail: rector@krasgmu.ru;  
<sup>2</sup>Institute for Medical Problems of the North, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences; Krasnoyarsk, e-mail: impn@impn.ru

Authors studied the lymphocytes metabolism in patients with active acromegaly. In acromegaly the condition row of the main lymphocytes metabolic processes is remarkable for low intensity of intermediators formation for macromolecular synthesis and aerobic process, but in the decreasing activity of glutathione-dependent antioxidant system. Also, in acromegaly is observed the accompanied between the high level of oxidation reaction in Krebs cycle and ADP phosphorylation leading to depression of ATP formation and cell breath insufficiency. These changes in intracellular metabolism of blood lymphocytes in acromegalics corresponding with functional activity disorders of immune cells, and may appearing as metabolic basis of oncological complication in acromegaly.

**Keywords:** acromegaly, lymphocytes, dehydrogenases, intracellular metabolism

Акромегалия представляет собой тяжелое нейроэндокринное заболевание, обусловленное длительной нерегулируемой гиперсекрецией гормона роста (СТГ). Ведущей причиной акромегалии является патологическая пролиферация соматотропных клеток аденогипофиза с развитием аденомы [1]. Нерегулируемая гиперсекреция опухолью СТГ, стимулирующего продукцию тканевых гормонов-посредников – инсулиноподобных ростовых факторов ИФР-I и ИФР-II способствует развитию в организме множественных системных и обменных нарушений, среди которых выделяют акромегалическую кардиомиопатию, артериальную гипертензию, респираторную недостаточность, остеоартропатию, сахарный диабет, вторичные онкологические заболевания, а также нарушения в функционировании иммунной системы [6, 7, 9]. Следствием продолжительного воздействия

повышенных концентраций СТГ и ИФР-I является не только прогрессирующее увеличение объема и нарушение дифференцировки клеточной массы, но и изменение функциональной активности клеток иммунной системы. Расстройства важнейших внутриклеточных биохимических процессов создают низкий противоопухолевый потенциал иммуноцитов и способствуют развитию различных неопластических процессов, которые оказывают негативное влияние на качество и продолжительность жизни больных акромегалией [13, 14, 15].

Известно, что функциональное состояние любой клетки организма в значительной степени зависит от внутриклеточных метаболических процессов. Особенности метаболизма клеток в наибольшей степени отражают дегидрогеназы, характеризующие в основном два типа метаболических процессов, от которых зависит функциони-

рование клетки, – энергетику и синтез [3]. В свою очередь СТГ и подконтрольный ему ИФР-I являются важнейшими модуляторами функциональной активности иммунных клеток, так как реализуют свое воздействие через рецепторный аппарат на систему внутриклеточного обмена и ряд важнейших биохимических реакций лимфоцитов [8, 10, 12]. Зависимость синтетических и энергетических процессов от концентрации ростовых факторов позволяет использовать лимфоциты периферической крови в качестве объекта исследований нарушений внутриклеточного обмена веществ при акромегалии [5].

**Целью данного исследования** являлось изучение активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных активной акромегалией.

#### **Материалы и методы исследования**

Уровень активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови исследован в группе из 88 больных активной акромегалией, из них 67 (76,1%) женщин и 21 (23,8%) мужчин. Возраст больных акромегалией колебался от 27 до 77 лет и в среднем составил  $51,81 \pm 11,89$  лет. Соотношение мужчин и женщин – 1:2. Длительность латентного периода акромегалии варьировала от 1 года до 25 лет, медиана – 4,67 лет [1,29; 7,37]. Показатели активной стадии акромегалии основывались на международном соглашении участников Гипофизарного общества и Европейской нейроэндокринологической ассоциации [11] и включали в себя следующие положения: клинические признаки активности процесса, превышение уровня СТГ в сыворотке крови более 0,4 нг/мл натощак, содержание ИРФ-I выше соответствующей возрастной и половой нормы, а также отсутствие подавления уровня СТГ менее 1 нг/мл при проведении орального глюкозотолерантного теста (ОГТТ) с 75 граммами глюкозы. Определение содержания в сыворотке крови СТГ и ИРФ-I проводили методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов СТГ ELISA (DBC, Канада) и ИРФ-I ELISA (IDS, США). Референсный диапазон базального уровня СТГ для взрослых соответствовал чувствительности метода определения и составлял 0,06–5,0 нг/мл. Глюкозотолерантный тест с нагрузкой 75 г глюкозы для выяснения степени активности акромегалии выполняли, измеряя исходный уровень СТГ в плазме крови и сравнивая с показателями СТГ через 30, 60, 90 и 120 минут. Активная стадия акромегалии регистрировалась при отсутствии снижения концентрации СТГ ниже 1 нг/мл за период проведения теста. Концентрация ИРФ-I у обследуемых больных в последующем сопоставлялась с возрастными и половыми нормами по таблицам лаборатории Esotegix (США). Контрольная группа состояла из 85 практически здоровых людей, соответствующих по возрасту и полу основной группе. Биологическим методом определяли активность глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), НАД- и НАДН-зависимых реакций лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимых реакций малатдегидро-

геназы (МДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), прямых и обратных реакций НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР) [2, 3]. Анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows, Release 7.0 (StatSoft Inc., США). Проверка количественных данных на нормальность проводилась с помощью теста Шапиро – Уилкса (Shapiro – Wilks W-test). По результатам теста гипотеза о нормальности распределения данных отвергнута. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного интервала между 25-м и 75-м процентилем (Me [C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>]). Анализ связи признаков проводился с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Критический уровень достоверности нулевой гипотезы был принят равным 0,05.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

У больных с активной акромегалией на фоне ярких клинических признаков заболевания (увеличение стоп и кистей, надбровных дуг, выступание нижней челюсти, выраженные головные боли, рефрактерная к терапии артериальная гипертензия и др.) выявлялись крайне высокие концентрации ростовых факторов в сыворотке крови. На момент клинко-иммунологического исследования уровень базального СТГ у обследуемых больных составил 16,91 нг/мл [7,39; 45,19], СТГ на 60 и 120 минуте ОГТТ – 10,59 нг/мл [4,29; 39,38] и 11,61 нг/мл [4,69; 33,02] соответственно. Медиана ИРФ-I у больных с активной стадией заболевания превышала верхнюю границу возрастной и половой нормы в 2–6 раз и была равна 580,51 мкг/л [401,04; 801,02].

При визуализации хиазмально-селлярной области методом МРТ выявлено наличие макроаденомы у большинства пациентов и лишь у 9 (21%) размеры опухоли составляли менее 10 мм в диаметре (микроаденомы).

При изучении уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ и концентрации ключевых интермедиатов в лимфоцитах крови у больных активной акромегалией выявлены выраженные отличия от показателей контрольной группы (таблица).

В целом при активной акромегалии, в условиях хронической гиперпродукции ростовых факторов, выявлена низкая интенсивность внутриклеточных метаболических реакций лимфоцитов. Исследуемые НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы находятся на разных метаболических путях лимфоцитов, поэтому их низкая активность в условиях хронической гиперпродукции СТГ/ИРФ-I отражает особенности различных сторон внутриклеточного обмена веществ при акромегалии. При изучении активности митохондриальных

НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ обнаружено снижение всех исследуемых НАД-зависимых оксидоредуктаз: НАДИЦДГ, НАДГДГ и МДГ, что позволяет констатировать низкий уровень потока по циклу трикарбоновых кислот. Подобное изменение активности дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот позволяет предположить, что на терминальных стадиях лимонного цикла происходит ингибирование субстратного потока [2, 5]. Высокая активность этого фермента в лимфоцитах больных акромегалией свидетельствует о повышенном синтезе указанных субстратов и интенсивности пластических процессов при данной патологии. Известно, что Г6ФДГ тесно взаимосвязана

с глутатионовой системой антиоксидантной защиты [3, 5]. Но, несмотря на значительную активность Г6ФДГ при акромегалии наблюдалось снижение активности, ГР. Возможно, в связи с низкой активностью ГР при акромегалии нарастает дефицит цистеина, недостаток которого в клетках иммунной системы приводит к развитию иммунодефицитных состояний [4]. Выявленное нарушение баланса между воздействием прооксидантных факторов и функциональными возможностями антиоксидантной системы при акромегалии ведет к избыточному неферментному свободнорадикальному окислению, снижая тем самым функциональную активность лимфоцитов.

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови у здоровых людей и больных активной акромегалией (Ме [С25-С75])

Ферменты	Контроль <i>n</i> = 85 1		Активная акромегалия <i>n</i> = 88 2	
	Ме	С <sub>25</sub> -С <sub>75</sub>	Ме	С <sub>25</sub> -С <sub>75</sub>
Г6ФДГ	5,75	4,5–7,25	0,91	0,02–9,98
				$p_1 < 0,05$
ГЗФДГ	37,0	31,0–43,0	0,24	0,01–18,68
ЛДГ	2,1	1,52–2,73	3,26	0,01–55,92
				$p_1 < 0,001$
НАДФМДГ	65,0	52,0–72,0	0,18	0,01–2,02
НАДФГДГ	1,3	0,9–1,8	0,01	0,005–0,07
НАДФИЦДГ	43,0	35,0–48,0	0,12	0,0–5,0
				$p_1 < 0,001$
МДГ	0,83	0,6–1,26	0,77	0,01–29,71
				$p_1 < 0,01$
НАДГДГ	28,0	22,0–34,0	0,03	0,01–6,67
				$p_1 < 0,05$
НАДИЦДГ	0,57	0,38–0,86	0,01	0,005–6,62
				$p_1 < 0,01$
НАДН-ЛДГ	18,0	14,0–22,0	0,66	0,03–3,97
				$p_1 < 0,01$
НАДН-МДГ	0,36	0,24–0,55	0,74	0,1–4,03
				$p_1 < 0,001$
ГР	15,0	11,0–20,0	0,01	0,005–15,61
				$p_1 < 0,01$
НАДН-ГДГ	0,3	0,21–0,42	0,27	0,01–2,26
				$p_1 < 0,001$
НАДФН-ГДГ	18,0	14,0–23,0	14,42	0,51–45,54
				$p_1 < 0,01$

Пр и м е ч а н и е .  $p_1$  – статистически достоверные различия с контрольными величинами.

Кроме того, снижение активности НАДФГДГ и НАДГДГ у обследуемых больных позволяет предположить, что в условиях хронической гиперсекреции СТГ дефицит глутамата связан с резко возросшей потребностью в нем быстропролиферирующих клеток. С этим же может быть связано и повышение активности МДГ в лимфоцитах крови у больных акромегалией, которое отражает интенсификацию субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, основного метаболического процесса в митохондриях, определяющего образование интермедиатов для аэробного дыхания. В то же время в группе больных акромегалией наблюдалось снижение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, которая является ключевой в системе малаг-аспаратного водородного шунта митохондрий и поддерживает водородный градиент для осуществления окислительного фосфорилирования. Кроме того, выявленные обратные взаимосвязи между уровнями активности ферментов и ростовыми факторами (СТГ и НАДН-ГДГ ( $r = -0,52$ ;  $p = 0,014$ ), ИФР-I и НАДФН-ГДГ ( $r = -0,56$ ;  $p = 0,007$ )) отражают регуляторные влияния СТГ/ИФР-I оси на внутриклеточный метаболизм. Данный феномен подтверждает наличие интегрированных взаимодействий между ростовыми факторами и важнейшими метаболическими реакциями лимфоцитов, следовательно, их концентрация отражает особенности регуляции различных сторон внутриклеточного обмена веществ при акромегалии.

### Заклучение

Таким образом, описанные выше изменения метаболизма лимфоцитов играют существенное значение в обеспечении адаптационных механизмов, перестройки иммунитета, повышении резистентности всего организма при таком тяжелом заболевании, как акромегалия. Метаболизм лимфоцитов при активной акромегалии отличается низким уровнем внутриклеточных биохимических процессов с недостаточностью реакций макромолекулярного синтеза и таких важных энергетических субстратов клетки, как глутаматергическая система и глутатионовый комплекс.

### Список литературы

1. Молитвослова Н.Н. Акромегалия: современные достижения в диагностике и лечении. Обзор литературы // Пробл. Эндокринологии. – 2011. – № 1. – С. 45–59.
2. Савченко А.А. Высококочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биолюминесцентным методом / А.А. Савченко, Л.Н. Сунцова // Лабораторное дело. – 1989, № 11. – С. 23–25.
3. Савченко А.А. Биолюминесцентное определение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ лимфоцитов // Лабораторное дело. – 1991, № 11. – С. 22–25.
4. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В., Держачева Т.И. и др. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – Т. 119, № 2. – С. 181–183.
5. Biagotti E., Bosch K.S., Ninfali P. et al. // J. Histochem. Cytochem. – 2000. – Vol. 48, № 7. – P. 971–977.
6. Colao A. Growth Hormone/Insulin-Like Growth Factor-I System and Connective Tissues: Basic Aspects and Clinical Implications / A. Colao, A. L. Barkan, R. Scarpa // Rheum. Dis. Clin. N. Am. – 2005. – Vol. 31, № 1. – P. 29–42.

7. Dagdelen S. Increased thyroid cancer risk in acromegaly / S. Dagdelen, N. Cinar, T. Erbas // Pituitary. – 2014. – Vol. 17, № 4. – P. 299–306.
8. Geffner M. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on T- and B-lymphocytes and immune function // Acta Paediatr. – 1997. – Vol. 423, № 1. – P. 76–79.
9. Jenkis P.J. Evidence for a link between IGF-I and cancer / P. J. Jenkis, S.A. Bustin // Eur. J. Endocrinol. – 2004. – Vol. 151. – P. 17–22.
10. Kelley K.W. From hormones to immunity: the physiology of immunology // Br. Behav. Imm. – 2004. – Vol. 18, № 2. – P. 95–113.
11. Melmed S., Colao A., Barkan A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 10. – P. 1–30.
12. Weroha S.J. The insulin-like growth factor system and cancer / S.J. Weroha, P. Haluska // Endocrinol. Metab. Clin. North America – 2012. – Vol. 41, № 2. – P. 335–350.
13. Tenore A. The expression and function of GH/IGF-I receptors in the immune system // NeuroImm. Biol. – 2002. – Vol. 2. – P. 67–86.
14. Weigent D.A. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 production by cells of the immune system // NeuroImm. Biol. – 2002. – Vol. 2. – P. 87–100.
15. Wolk A. The growth hormone and insulin-like growth factor I axis, and cancer // Lancet. – 2004. – Vol. 363, № 9418. – P. 1336–1337.

### References

1. Molitvoslovova N.N. Akromegalija: sovremennye dostizhenija v diagnostike i lechenii. Obzor literatury // Probl. Jendokrinol. 2011. no. 1. pp. 45–59.
2. Savchenko A.A. Vysokochuvstvitel'noe opredelenie aktivnosti degidrogenaz v limfocitah perifericheskoj krovi cheloveka bioluminescentnym metodom / A.A.Savchenko, L.N. Suncova // Laboratornoe delo. 1989, no. 11. pp. 23–25.
3. Savchenko A.A. Bioluminescentnoe opredelenie aktivnosti NAD- i NADF-zavisimyh glutamatdegidrogenaz limfocitov // Laboratornoe delo. 1991, no. 11. pp. 22–25.
4. Trufakin V.A., Shurlygina A.V., Dergacheva T.I. i dr. // Bjull. jeksperim. biol. i med. 1995. T. 119, no. 2. pp. 181–183.
5. Biagotti E., Bosch K.S., Ninfali P. et al. // J. Histochem. Cytochem. 2000. Vol. 48, no. 7. pp. 971–977.
6. Colao A. Growth Hormone/Insulin-Like Growth Factor-I System and Connective Tissues: Basic Aspects and Clinical Implications / A. Colao, A.L. Barkan, R. Scarpa // Rheum. Dis. Clin. N. Am. 2005. Vol. 31, no. 1. pp. 29–42.
7. Dagdelen S. Increased thyroid cancer risk in acromegaly / S. Dagdelen, N. Cinar, T. Erbas // Pituitary. 2014. Vol. 17, no. 4. pp. 299–306.
8. Geffner M. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on T- and B-lymphocytes and immune function // Acta Paediatr. 1997. Vol. 423, no. 1. pp. 76–79.
9. Jenkis P.J. Evidence for a link between IGF-I and cancer / P.J. Jenkis, S.A. Bustin // Eur. J. Endocrinol. 2004. Vol. 151. pp. 17–22.
10. Kelley K. W. From hormones to immunity: the physiology of immunology // Br. Behav. Imm. 2004. Vol. 18, no. 2. pp. 95–113.
11. Melmed S., Colao A., Barkan A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2009. Vol. 10. pp. 1–30.
12. Weroha S.J. The insulin-like growth factor system and cancer / S.J. Weroha, P. Haluska // Endocrinol. Metab. Clin. North America 2012. Vol. 41, no. 2. pp. 335–350.
13. Tenore A. The expression and function of GH/IGF-I receptors in the immune system // NeuroImm. Biol. 2002. Vol. 2. pp. 67–86.
14. Weigent D.A. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 production by cells of the immune system // NeuroImm. Biol. 2002. Vol. 2. pp. 87–100.
15. Wolk A. The growth hormone and insulin-like growth factor I axis, and cancer // Lancet. 2004. Vol. 363, no. 9418. pp. 1336–1337.

### Рецензенты:

Куртасова Л.М., д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии, ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск;  
 Матюшин Г.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой кардиологии и функциональной диагностики ИПО, ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск.

Работа поступила в редакцию 25.12.2014.