

Влияние пропионата на спектр высших жирных кислот в клетках шейки матки при дис- и неопластической трансформации

Е.В. Каюкова, Т.Е. Белокриницкая, П.П. Терешков

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России;
Россия 672000 Чита, ул. Горького, 39А

Контакты: Елена Владимировна Каюкова elena_pochta22@mail.ru

Введение. Метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток является одним из ведущих звеньев канцерогенеза.

Цель исследования – подтвердить гипотезу пропионатного пути синтеза высших жирных кислот (ВЖК) с нечетным числом атомов углерода при цервикальном раке.

Материалы и методы. В качестве образцов для исследования послужили биоптаты шейки матки, из которых выделяли суспензию опухолевых клеток (20 – рак шейки матки, 20 – цервикальная интраэпителиальная неоплазия, 18 – эндоцервикальный соскоб от здоровых женщин). Спектр ВЖК анализировали до и после 24-часовой инкубации с 50 мкмоль/л пропионовой кислоты и без нее с помощью метода газовой хроматографии.

Результаты. При злокачественной трансформации эпителия шейки матки в пределах одного органа метаболизм ВЖК разнонаправлен. В локусе цервикального рака, вероятнее всего, имеет место пропионатный путь синтеза ВЖК с использованием пальмитата. При тяжелой цервикальной дисплазии метаболизм ВЖК иной. Дефицит пальмитиновой кислоты можно объяснить синтезом стеариноата, который метаболизируется в олеиноат.

Заключение. Выявлена особенность биохимических изменений в пределах одного органа и одной патологии, что отражает этапность развития онкологического процесса.

Ключевые слова: рак шейки матки, атипичный метаболизм, жирные кислоты

Для цитирования: Каюкова Е.В., Белокриницкая Т.Е., Терешков П.П. Влияние пропионата на спектр высших жирных кислот в клетках шейки матки при дис- и неопластической трансформации. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(2):31–41.

DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-31-41

The influence of propionate on the spectrum of long-chain fatty acids in cervical cells during dis- and neoplastic transformation

E.V. Kayukova, T.E. Belokrinitskaya, P.P. Tereshkov

Chita State Academy of Medicine, Ministry of Health of Russia;
39A Gor'kogo St., Chita 672000, Russia

Background. Metabolic reprogramming of tumor cells is one of the leading links in carcinogenesis.

The objective to confirm the hypothesis of a propionate pathway for the synthesis of long-chain acids with an odd number of carbon atoms in cervical cancer.

Materials and methods. As samples for the study were biopsies of the colli uteri, from which a suspension of tumor cells was obtained (20 – cervical cancer, 20 – cervical intraepithelial neoplasia III grade, 18 – endocervical scraping from healthy women). The spectrum of fatty acids (FA) was analyzed before, after 24 hours incubation without and with 50 $\mu\text{mol/l}$ propionic acid by the gas chromatography method.

Results. Metabolism of FA is multidirectional in different locus in cervical cancer. In the locus of cervical cancer, most likely, there is a propionic pathway for the synthesis of FA using palmitate. In cervical intraepithelial neoplasia III grade, the metabolism of FA is another. Palmitic acid was used for synthesis stearate, which was metabolized to oleic acid.

Conclusion. The specificity of biochemical changes within one organ and one pathology has been revealed, which reflects the stage-by-stage development of the oncological process.

Key words: cervical cancer, atypical metabolism, fatty acid

For citation: Kayukova E.V., Belokrinitskaya T.E., Tereshkov P.P. The influence of propionate on the spectrum of long-chain fatty acids in cervical cells during dis- and neoplastic transformation. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018; 5(2):31–41.

Введение

Известно, что метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток является одним из ведущих звеньев канцерогенеза [1]. В рамках изучения биохимического атипизма опухолевых клеток впервые в 1995 г. Б.С. Хышиктуев и соавт. предложили гипотезу пропионатного пути синтеза высших жирных кислот (ВЖК). Авторы выявили в конденсате выдыхаемого воздуха у больных раком легкого жирную кислоту с 19 атомами углерода (2-метилстеариновая), которая, по их мнению, синтезируется при участии пропионата [2].

В настоящей работе мы попытались подтвердить правомерность этой гипотезы для цервикального рака. Проблема рака шейки матки в современной онкологии является одной из самых актуальных с учетом широкой распространенности заболевания (1-е место в структуре онкогинекологической заболеваемости) и поражения женщин преимущественно трудоспособного и детородного возраста [3].

Цель исследования — оценить влияние пропионата *in vitro* на спектр ВЖК тканевых липидов эпителия шейки матки при предопухолевых заболеваниях и неоплазии экзоцервикса.

Материалы и методы

В нерандомизированное проспективное контролируемое исследование включены 58 женщин, проходивших обследование и лечение в Краевом онкологическом диспансере (г. Чита). Средний возраст пациенток составил $38,0 \pm 8,26$ года. Все обследуемые были информированы о проводимом исследовании и дали письменное согласие на участие в нем. Исследование выполнено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 1964, редакция 2013) с согласия Локального этического комитета Читинской государственной медицинской академии.

В качестве образцов исследования послужили фрагменты ткани шейки матки, полученные путем прицельной биопсии или интраоперационно с морфологическим контролем. В соответствии с данными гистологического исследования каждый образец ткани был разделен на 2 фрагмента: А — очаг поражения; Б — ткань без признаков дис- и неопластической трансформации. Нами выделены 3 клинические группы больных: I — пациентки с предраковыми заболеваниями шейки матки ($n = 20$, цервикальная интраэпителиальная неоплазия III степени); II — с диагнозом рак шейки матки ($n = 20$, гистологически подтвержденный плоскоклеточный рак стадии 0–Ib); контрольная — здоровые женщины ($n = 18$).

Для получения клеточной суспензии биоптат измельчали и гомогенизировали в гомогенизаторе Gentle MACS Dissociator (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) с пробирками С-типа с использованием набора реагентов Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) согласно инструкции производителя.

Полученную суспензию клеток фильтровали через капроновый фильтр (размер ячеек 30 мкм) и промывали буфером autoMACS Rinsing Solution (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Количество клеток определяли с помощью проточного цитофлуориметра FC500 (Beckman-Coulter, США) с использованием счетных флуоросфер FLOW-COUNT (Beckman-Coulter, США).

Для изучения спектра ВЖК липиды экстрагировали методом J. Folch и соавт. [4]. Спектр ВЖК анализировали на хроматографе «Кристалл-2000М» (Россия) с использованием плазменно-ионизационного детектора и капиллярной колонки FFAP (США). Список оцениваемых ВЖК приведен в табл. 1. Идентификацию и обсчет пиков осуществляли с помощью программно-аппаратного комплекса Analitika с использованием IBM Intel Pentium 4. Результаты исследования оценивали до и после 24-часовой инкубации с 50 мкмоль/л пропионовой кислоты и без нее (так называемая чистая, или изолированная, инкубация).

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы BIostat. Полученные результаты представлены как медиана с указанием 25-го и 75-го перцентилей. Использовали методы непараметрической статистики с применением критерия Вилкоксона для парных измерений и U-критерия Манна–Уитни с контрольной группой. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В здоровых клетках цервикального эпителия после инкубации с пропионатом суммарное содержание насыщенных жирных кислот не изменилось, но среди отдельных представителей жирных кислот этого класса наблюдались количественные колебания (табл. 2). Вклады $C_{16:0}$ и $C_{20:0}$ уменьшились на 6,4 и 11,3 % соответственно ($p < 0,001$), а концентрации $C_{14:0}$, $C_{15:0}$, $C_{17:0}$ и $C_{18:0}$ возросли (на 10,0; 9,4; 9,1 и 9,6 % соответственно) по сравнению с таковыми в условиях изолированной инкубации ($p < 0,001$). Доля моноеновых кислот после инкубации с пропионатом снизилась на 9,6 % ($p < 0,001$). Дефицит мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) был обусловлен, главным образом, уменьшением значений миристоолеиновой ($C_{14:1}$) и олеиновой ($C_{18:1}$) кислот на 40,8 и 11,0 % соответственно ($p < 0,001$). Уровень полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в здоровых клетках экзоцервикса под действием пропионата увеличился на 7 % за счет возрастающих концентраций $\omega 3$ -линоленовой, дигомо- γ -линоленовой, арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозапентаеновой кислот на 9,7; 9,5; 6,2; 9,6 и 9,7 % соответственно ($p < 0,001$) (см. табл. 2).

После инкубации с пропионовой кислотой во всех биоптатах I группы независимо от локализации по отношению к очагу поражения наблюдалось увеличение концентраций $C_{14:0}$, $C_{15:0}$, $C_{17:0}$, $C_{18:0}$, $C_{20:0}$ в среднем на 9,5 % для каждой из них в подгруппах IA и IB по сравнению с соответствующим показателем в условиях

Таблица 1. Оцениваемый спектр высших жирных кислот
Table 1. Evaluated spectrum of higher fatty acids

Шифр Code	Название Name
Насыщенные <i>Saturated</i>	
C _{14:0}	Миристиновая Myristic
C _{15:0}	Пентадекановая Pentadecanoic
C _{16:0}	Пальмитиновая Palmitic
C _{17:0}	Маргариновая Margaric
C _{18:0}	Стеариновая Stearic
C _{19:0}	α -метилстеариновая α -methylstearic
C _{20:0}	Арахидиновая Arachidic
Мононенасыщенные <i>Monounsaturated</i>	
C _{14:1}	Миристоолеиновая Myristoleic
C _{15:1}	Пентадекаеновая Pentadecenoic
C _{16:1}	Пальмитолеиновая Palmitoleic
C _{17:1}	Гептадекаеновая Heptadecenic
C _{18:1}	Олеиновая Oleic
Полиненасыщенные <i>Polyunsaturated</i>	
C _{18:2ω6}	Линолевая Linoleic
C _{18:3ω6}	γ -линоленовая γ -linoleic
C _{18:3ω3}	α -линоленовая α -linoleic
C _{20:3ω6}	Дигомо- γ -линоленовая Dihomo- γ -linoleic
C _{20:4ω6}	Арахидоновая Arachidonic
C _{20:5ω3}	Эйкозапентаеновая Eicosapentaenoic
C _{22:5ω3}	Докозапентаеновая Docosapentaenoic

изолированной инкубации ($p < 0,02$) (табл. 3). Исключение составила лишь C_{16:0}, вклад которой и в подгруппах IA и IB уменьшился на 3,5 и 6,4 % соответственно ($p < 0,02$). После воздействия C_{3:0} доля МНЖК сократилась на 4 и 7 % в подгруппах IA и IB соответственно

($p < 0,02$). Во всех биоптатах зарегистрировано повышение концентраций C_{14:1}, C_{16:1}, C_{17:1} в среднем на 9,5 % для каждой из них и снижение вклада C_{18:1} на 7,3 % ($p < 0,02$). В самом очаге поражения пул C_{15:1} был увеличен на 9,8 %, а в условно здоровых клетках снижен на 10,7 % ($p < 0,02$). Дефицит ПНЖК под действием пропионовой кислоты сокращался. В зоне предопухолевых изменений шейки матки и в клетках парадиспластической локализации под влиянием C_{3:0} пул ПНЖК увеличился на 11,0 и 9,1 % соответственно ($p < 0,02$).

В очаге поражения пул C_{18:3 ω 3} увеличился почти в 2 раза, концентрация остальных полиеновых кислот возросла в среднем на 9 % (см. табл. 3). В парадиспластических клетках динамика изменений состава ПНЖК была монотонной: рост уровней представителей ω 3-серий (C_{18:3 ω 3}, C_{20:5 ω 3}, C_{22:5 ω 3}) и ω 6-серий (C_{18:2 ω 6}, C_{18:3 ω 6}, C_{20:3 ω 6}, C_{20:4 ω 6}) – на 9 % для каждой из них ($p < 0,001$). Необходимо отметить положительную динамику уровня ВЖК с нечетным числом атомов углерода под действием пропионата в среднем на 10,7 и 10,3 % для подгрупп IA и IB соответственно ($p < 0,001$).

Под влиянием пропионовой кислоты в образцах цервикального рака доля насыщенных жирных кислот уменьшилась на 13 % ($p < 0,001$), но их уровень так и не достиг контрольной величины (табл. 4). Описанные изменения связаны со снижением количества пальмитиновой и стеариновой кислот на 30,3 и 27,4 % соответственно по отношению к показателям в условиях изолированной инкубации ($p < 0,001$). В паранеопластических клетках вклад насыщенных ЖК под действием пропионата не изменился, однако среди отдельных представителей данного класса соединений были выявлены количественные колебания, характерные и для злокачественного поражения. В очаге малигнизации под влиянием C_{3:0} увеличился пул насыщенных жирных кислот с нечетным числом атомов углерода в цепи, таких как пентадекановая и маргариновая, на 28 % для каждой из них ($p < 0,02$). Для клеток паранеопластической локализации эта тенденция сохранялась, но была менее выражена. Так, концентрации C_{15:0}, C_{17:0} после инкубации с C_{3:0} возросли на 17 и 18 % соответственно ($p < 0,02$). Кроме этого, интересным выглядит факт нарастания вклада C_{19:0} во всех биоптатах цервикального эпителия из II группы под влиянием пропионата: на 28,0 % для злокачественного поражения и 18,4 % для условно здоровых клеток ($p < 0,02$). Следует отметить, что в I группе эта кислота не верифицировалась, несмотря на изменение условий инкубации (добавление пропионата).

В отношении модификации пула насыщенных жирных кислот с четным числом атомов углерода под действием C_{3:0} при злокачественном поражении установлено, что концентрации миристиновой и арахидиновой кислот увеличились на 27,8 и 28,0 % в очаге неоплазии и на 17,5 и 18,7 % в условно здоровых клетках соответственно ($p < 0,02$), а пул пальмитиновой кислоты снизился в обеих подгруппах. Уровень

Таблица 2. Содержание высших жирных кислот в здоровых клетках шейки матки в зависимости от условий инкубации (Ме (25-й; 75-й перцентили)), %

Table 2. Higher fatty acid content in healthy cervix uteri cells depending on incubation conditions (Me (25th; 75th percentiles)), %

Шифр высших жирных кислот Higher fatty acid code	До инкубации Prior to incubation	После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation	
		изолированной isolated	с пропионатом with propionate
Насыщенные жирные кислоты <i>Saturated fatty acids</i>			
C _{14:0}	2,75 (2,24; 3,09)	2,01* (1,75; 2,42)	2,21** (1,92; 2,65)
C _{15:0}	2,03 (1,94; 2,13)	1,59* (1,52; 1,66)	1,74** (1,67; 1,82)
C _{16:0}	24,47 (22,5; 26,4)	30,04* (28,45; 31,50)	28,1** (26,37; 29,71)
C _{17:0}	1,67 (1,59; 2,03)	1,31* (1,24; 1,59)	1,43 (1,37; 1,74)
C _{18:0}	9,02 (8,77; 12,01)	7,05* (6,04; 9,43)	7,73** (6,62; 10,34)
C _{19:0}	—	—	—
C _{20:0}	2,75 (2,14; 2,96)	2,65* (1,67; 2,32)	2,35** (1,863; 2,54)
Всего <i>Total</i>	42,7 (39,2; 48,6)	44,6* (40,7; 48,9)	43,6 (39,8; 48,8)
Мононенасыщенные жирные кислоты <i>Monounsaturated fatty acids</i>			
C _{14:1}	1,39 (1,37; 1,41)	2,01* (1,75; 2,42)	1,19** (1,18; 1,21)
C _{15:1}	0,80 (0,78; 0,89)	0,63* (0,61; 0,69)	0,69 (0,67; 0,76)
C _{16:1}	2,74 (2,29; 3,05)	2,14* (1,79; 2,38)	2,35** (1,96; 2,61)
C _{17:1}	2,51 (2,42; 2,60)	1,96* (1,89; 2,03)	2,15** (2,08; 2,23)
C _{18:1}	16,1 (13,7; 18,2)	23,47* (21,60; 25,14)	20,9** (18,9; 22,7)
Всего <i>Total</i>	23,5 (20,6; 26,2)	30,2* (27,6; 32,6)	27,3** (24,8; 29,5)
Полиненасыщенные жирные кислоты <i>Polyunsaturated fatty acids</i>			
C _{18:2ω6}	12,20 (10,34; 14,93)	9,54* (8,09; 11,68)	10,75** (8,87; 12,8)
C _{18:3ω6}	4,32 (3,74; 5,06)	3,38* (2,92; 3,95)	3,1** (3,20; 4,34)
C _{18:3ω3}	2,35 (2,09; 2,70)	1,84* (1,63; 2,11)	2,02** (1,79; 2,32)
C _{20:3ω6}	2,96 (2,47; 3,89)	2,32* (1,93; 3,04)	2,54** (2,12; 3,34)
C _{20:4ω6}	4,42 (3,68; 5,23)	3,46* (2,88; 4,09)	3,78** (3,16; 4,49)
C _{20:5ω3}	3,72 (3,08; 4,04)	2,91* (2,41; 3,16)	3,19** (2,64; 3,46)
C _{22:5ω3}	1,97 (1,67; 2,28)	1,54* (1,31; 1,78)	1,69** (1,43; 1,95)
Всего <i>Total</i>	31,9 (27,1; 38,1)	25* (21,2; 28,8)	26,8** (23,2; 32,7)
Высшие жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода <i>Higher fatty acids with odd number of carbon acids</i>	7,01 (6,73; 7,7)	5,5* (5,3; 6,0)	6,01 (5,8; 6,6)

*Достоверные различия между показателями в условиях до изолированной инкубации и после нее.

*Significant differences between the characteristics prior to isolated incubation and after it.

**Достоверные различия между показателями в разных условиях инкубации.

**Significant differences between the characteristics in different incubation conditions.

стеариновой кислоты варьировал в зависимости от подгрупп. Так, в малигнизированных участках эпителия под действием пропионата этот показатель снизился на 27,3 %, а в условно здоровых клетках увеличился на 18,0 %.

Что касается МНЖК, то после воздействия C_{3:0} их доля сократилась на 9 % в клетках паранеопластической локализации и очаге рака ($p < 0,020$) (см. табл. 4).

В локусе злокачественной трансформации под влиянием пропионата наблюдалось снижение пула

Таблица 3. Содержание высших жирных кислот в клетках шейки матки различной локализации при диспластической трансформации в зависимости от условий инкубации (Me (25-й; 75-й перцентили), %)

Table 3. Higher fatty acid content in cervix uteri cells of varying localization with dysplastic transformation depending on incubation conditions (Me (25th; 75th percentiles), %)

Шифр высших жирных кислот Higher fatty acid code	IA IA		IB IB			
	После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation		После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation			
	До инкубации Prior to incubation	изолированной isolated	До инкубации Prior to incubation	изолированной isolated		
Насыщенные жирные кислоты Saturated fatty acids						
C _{14:0}	3,36 (3,03; 3,69)	2,53* (2,28; 2,78)	2,77** (2,50; 3,04)	4,19 (3,50; 3,87)	3,20* (2,68; 3,73)	3,50** (2,93; 4,07)
C _{15:0}	1,97 (1,92; 2,02)	1,48* (1,44; 1,52)	1,62** (1,58; 1,67)	1,64 (1,61; 1,66)	1,25* (0,97; 1,17)	1,37** (1,35; 1,39)
C _{16:0}	32,6 (30,98; 34,20)	36,9* (35,7; 38,1)	35,6** (34,3; 37,0)	23,3 (21,1; 25,5)	29,6* (27,9; 31,2)	27,7** (25,8; 29,5)
C _{17:0}	2,97 (2,47; 3,47)	2,23* (1,86; 2,61)	2,45** (2,04; 2,86)	2,07** (1,70; 2,43)	1,58* (1,30; 1,90)	1,73** (1,42; 2,03)
C _{18:0}	10,70 (7,24; 14,20)	8,08 (5,45; 10,71)	8,86** (5,97; 11,70)	17,2 (15,5; 18,70)	13,08* (11,80; 14,30)	14,3** (12,9; 15,7)
C _{19:0}	—	—	—	—	—	—
C _{20:0}	1,13 (1,07; 1,20)	0,85* (0,80; 0,90)	0,93** (0,88; 0,99)	1,92 (1,67; 2,18)	1,47* (1,28; 1,67)	1,61** (1,39; 1,82)
Всего Total	52,7 (46,7; 58,8)	52,1 (47,5; 56,6)	52,2 (47,3; 57,3)	50,3 (45,1; 54,3)	50,2 (45,9; 54,0)	50,2 (45,8; 54,5)
Мононенасыщенные жирные кислоты Monounsaturated fatty acids						
C _{14:1}	1,17 (1,16; 1,18)	0,88* (0,88; 0,89)	0,97** (0,96; 0,97)	1,40 (1,27; 1,53)	1,07* (0,97; 1,17)	1,17** (1,06; 1,28)
C _{15:1}	2,45 (1,95; 2,95)	1,84* (1,47; 2,22)	2,02** (1,61; 2,43)	1,80 (1,62; 1,98)	1,68* (1,24; 1,52)	1,50** (1,35; 1,66)
C _{16:1}	4,13 (3,32; 4,94)	3,11* (2,50; 3,72)	3,41** (2,74; 4,07)	3,28 (2,29; 4,26)	2,51* (1,75; 3,26)	2,74** (1,91; 3,56)
C _{17:1}	1,30 (1,09; 1,51)	0,98* (0,82; 1,14)	1,07** (0,90; 1,25)	1,94 (1,87; 2,01)	1,48* (1,43; 1,54)	1,62** (1,56; 1,68)
C _{18:1}	21,3 (19,8; 22,8)	28,5* (27,3; 29,6)	26,4** (25,1; 27,6)	15,7 (11,9; 19,5)	23,7* (20,8; 26,6)	21,3** (18,1; 24,5)
Всего Total	31,5 (28,4; 34,6)	35,3* (32,9; 37,5)	33,9** (31,3; 36,3)	24,1 (18,9; 29,0)	30,4* (26,2; 34,1)	28,3** (24,0; 32,7)

Окончание табл. 3.
End of table 3

Шифр высших жирных кислот Higher fatty acid code	IA IA		IB IB			
	До инкубации Prior to incubation		После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation			
	изолированной isolated	с пропионатом with propionate	изолированной isolated	с пропионатом with propionate		
Полиненасыщенные жирные кислоты <i>Polyunsaturated fatty acids</i>						
C _{18:2ω6}	9,03 (8,58; 9,48)	6,79* (3,45; 7,13)	7,45** (7,08; 7,82)	8,82 (8,64; 9,0)	6,75* (6,61; 6,89)	7,37** (7,22; 7,52)
C _{18:3ω6}	1,27 (1,09; 1,45)	0,96* (0,82; 1,09)	1,05** (0,90; 1,20)	3,49 (2,75; 4,23)	2,67* (2,10; 3,24)	2,92** (2,30; 3,54)
C _{18:3ω3}	0,46 (0,23; 0,69)	0,35* (0,18; 0,52)	0,68** (0,19; 0,57)	1,90 (1,64; 2,16)	1,46* (1,26; 1,66)	1,59** (1,37; 1,81)
C _{20:3ω6}	1,35 (1,14; 1,56)	1,02* (0,86; 1,18)	1,12** (0,94; 1,29)	2,61 (1,57; 3,66)	2,0* (1,2; 2,8)	2,19** (1,31; 3,06)
C _{20:4ω6}	1,81 (1,35; 2,27)	1,36* (1,01; 1,71)	1,49** (1,11; 1,87)	3,57 (3,02; 4,12)	2,73* (2,31; 3,15)	2,98** (2,52; 3,44)
C _{20:5ω3}	2,32 (2,04; 2,61)	1,75* (1,53; 1,96)	1,91** (1,68; 2,15)	3,32 (2,85; 3,79)	2,54* (2,18; 2,90)	2,78** (2,38; 3,17)
C _{22:5ω3}	0,60 (0,39; 0,82)	0,45* (0,29; 0,61)	0,50** (0,32; 0,67)	2,02 (1,74; 2,30)	1,55* (1,33; 1,76)	1,69** (1,45; 1,92)
Всего <i>Total</i>	16,8 (14,8; 18,9)	12,7* (8,1; 14,2)	14,1** (12,2; 15,6)	25,6 (22,2; 29,3)	19,7* (17,0; 22,4)	21,5** (18,6; 24,5)
Высшие жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода Higher fatty acids with odd number of carbon acids	8,70 (7,43; 10,0)	6,5* (5,6; 7,5)	7,2** (6,1; 8,2)	7,5 (6,8; 8,1)	6,0* (4,9; 6,1)	6,2** (5,7; 6,8)

* Достоверные различия между показателями в условиях до изолированной инкубации и после нее.

*Significant differences between the characteristics prior to isolated incubation and after it.

** Достоверные различия между показателями в разных условиях инкубации.

** Significant differences between the characteristics in different incubation conditions.

Примечание. Здесь и в табл. 4: А — очаг предопухолового поражения шейки матки; Б — ткань без признаков диспластической трансформации.

Note. Here and in Table 4: A — premalignant lesion in the cervix uteri; B — tissue without signs of dysplastic transformation.

Таблица 4. Содержание высших жирных кислот в клетках шейки матки различной локализации при неопластической трансформации в зависимости от условий инкубации (Me (25-й; 75-й перцентили), %)

Table 4. Higher fatty acid content in cervix uteri cells of varying localization with neoplastic transformation depending on incubation conditions (Me (25th; 75th percentiles), %)

Шифр высших жирных кислот Higher fatty acid code	IIA IIA		IIB IIB			
	До инкубации Prior to incubation	После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation		До инкубации Prior to incubation	После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation	
		изолированной isolated	с пропионатом with propionate		изолированной isolated	с пропионатом with propionate
Насыщенные жирные кислоты <i>Saturated fatty acids</i>						
C _{14:0}	4,22 (4,02; 4,78)	5,47* (5,21; 6,20)	6,99** (6,66; 7,93)	2,50 (2,30; 3,45)	1,94* (1,78; 2,67)	2,28** (2,10; 3,15)
C _{15:0}	1,55 (1,54; 1,60)	2,01* (1,99; 2,07)	2,57** (2,55; 2,65)	1,29 (1,20; 1,51)	1,0* (0,93; 1,17)	1,17** (1,10; 1,37)
C _{16:0}	29,9 (28,5; 31,7)	23,8* (22,1; 26,3)	16,6** (14,3; 19,7)	26,5 (25,5; 29,9)	31,8* (31,1; 34,5)	28,6** (27,7; 31,7)
C _{17:0}	2,01 (1,47; 2,38)	2,61* (1,91; 3,08)	3,33** (2,44; 3,95)	4,10 (3,95; 4,35)	3,17* (3,05; 3,36)	3,74** (3,60; 3,96)
C _{18:0}	13,8 (11,9; 14,3)	17,9* (15,5; 18,5)	13,0** (10,9; 14,3)	12,60 (9,14; 13,30)	9,74* (7,07; 10,30)	11,50** (8,83; 12,10)
C _{19:0}	3,91 (3,53; 4,33)	5,07* (4,58; 5,61)	6,49** (5,86; 7,18)	0,98 (0,79; 1,12)	0,76 (0,61; 0,87)	0,90** (0,72; 1,02)
C _{20:0}	1,63 (1,47; 1,68)	2,11* (1,90; 2,17)	2,70** (2,43; 2,78)	1,18 (0,83; 1,64)	0,91* (0,64; 1,27)	1,08** (0,76; 1,49)
Всего <i>Total</i>	57,0 (52,4; 60,8)	59,0 (51,3; 63,9)	51,4** (45,1; 58,5)	49,2 (43,7; 55,3)	49,3 (45,2; 54,1)	49,3 (46,9; 54,8)
Мононенасыщенные жирные кислоты <i>Monounsaturated fatty acids</i>						
C _{14:1}	1,31 (1,22; 2,19)	5,47* (5,20; 6,20)	2,17** (2,02; 3,64)	1,12 (1,08; 1,19)	0,86* (0,83; 0,92)	1,02** (2,10; 3,15)
C _{15:1}	0,67 (0,66; 0,68)	0,87 (0,86; 0,88)	1,12** (1,10; 1,12)	0,44 (0,39; 0,54)	0,34 (0,30; 0,42)	0,40** (0,35; 0,49)
C _{16:1}	3,95 (3,56; 4,94)	5,12* (4,61; 6,40)	6,55** (5,90; 8,19)	5,44 (4,29; 6,01)	4,21 (3,32; 4,65)	4,96** (3,91; 5,48)
C _{17:1}	0,57 (0,52; 0,86)	0,74* (0,67; 1,11)	0,95** (0,86; 1,43)	1,21 (0,81; 1,39)	0,94* (0,63; 1,07)	1,10** (0,74; 1,27)
C _{18:1}	24,2 (22,9; 25,3)	16,6* (14,9; 17,9)	15,0 (10,4; 17,2)	20,6 (19,6; 22,6)	27,3* (26,5; 28,8)	23,2** (22,3; 25,0)
Всего <i>Total</i>	30,7 (28,9; 34,0)	28,9* (26,2; 32,5)	25,8** (20,3; 31,6)	28,8 (27,3; 31,7)	33,7* (31,6; 35,9)	30,7** (29,4; 35,4)

Окончание табл. 4.
End of table 4

Шифр высших жирных кислот Higher fatty acid code	IIА IIA		IIБ IIB			
	До инкубации Prior to incubation		После 24-часовой инкубации After 24-hour incubation			
	изолированной isolated	с пропионатом with propionate	изолированной isolated	с пропионатом with propionate		
Полиненасыщенные жирные кислоты <i>Polyunsaturated fatty acids</i>						
C _{18:2ω6}	4,65 (3,95; 5,02)	6,03* (5,12; 6,51)	7,71** (6,55; 8,33)	6,72 (6,14; 7,08)	5,20* (4,75; 5,48)	6,13** (5,60; 6,45)
C _{18:3ω6}	1,95 (1,54; 1,99)	2,53* (2,0; 2,58)	3,24** (2,56; 3,30)	4,36 (3,78; 4,49)	3,37* (2,92; 3,47)	3,97** (3,45; 4,09)
C _{18:3ω3}	0,65 (0,16; 0,82)	0,85 (0,21; 1,06)	1,09** (0,27; 1,36)	1,69 (1,26; 1,83)	1,31* (0,97; 1,42)	1,54** (1,15; 1,67)
C _{20:3ω6}	1,32 (1,85; 1,68)	1,71* (1,11; 2,18)	2,19** (1,42; 2,79)	0,80 (0,65; 1,07)	0,62* (0,50; 0,83)	0,73** (0,59; 0,98)
C _{20:4ω6}	2,21 (1,62; 2,35)	2,86* (2,10; 3,04)	3,66** (2,69; 3,89)	1,91 (1,84; 2,75)	1,48* (1,42; 2,13)	1,74** (1,67; 2,51)
C _{20:5ω3}	2,08 (1,76; 2,31)	2,70 (2,28; 2,99)	3,45** (2,91; 3,83)	3,71 (3,52; 3,83)	2,87* (2,72; 2,96)	3,38** (3,21; 3,49)
C _{22:5ω3}	0,29 (0,22; 0,81)	0,38 (0,28; 1,05)	0,49** (0,36; 1,34)	1,42 (1,32; 1,82)	1,10* (1,02; 1,41)	1,30** (1,20; 1,66)
Всего <i>Total</i>	13,2 (11,1; 15,0)	17,1* (13,1; 19,4)	21,8** (16,8; 24,8)	20,6 (18,5; 22,9)	16,0* (14,3; 17,7)	18,8** (16,9; 20,9)
Высшие жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода <i>Higher fatty acids with odd number of carbon acids</i>	8,71 (7,72; 9,86)	11,1* (10,0; 12,8)	14,5** (12,8; 16,3)	8,02 (7,14; 8,91)	6,21* (5,52; 6,89)	7,31** (6,51; 8,11)

* Достоверные различия между показателями в условиях до изолированной инкубации и после нее.

*Significant differences between the characteristics prior to isolated incubation and after it.

** Достоверные различия между показателями в разных условиях инкубации.

**Significant differences between the characteristics in different incubation conditions.

миристоолеиновой кислоты на 60,3 % ($p < 0,02$). Концентрация остальных представителей МНЖК, таких как $C_{15:1}$, $C_{16:1}$, $C_{17:1}$, в клетках этой локализации возросла на 28,7; 27,9 и 28,3 % соответственно ($p < 0,02$).

В паранеопластических клетках динамика изменения профиля МНЖК была аналогична, за исключением уровней миристоолеиновой и олеиновой кислот (см. табл. 4). Вклад первой под влиянием $C_{3:0}$ увеличился на 18,6 %, а второй – уменьшился на 14,9 % ($p < 0,02$).

Под действием пропионата дефицит ПНЖК уменьшился на 27,4 и 17,5 % в очаге злокачественного поражения и в условно здоровых клетках соответственно ($p < 0,05$) за счет увеличения доли представителей как $\omega 3$ -, так и $\omega 6$ -серий кислот, в среднем на 28 % в очаге поражения и на 20 % на периферии органа для каждой из них ($p < 0,02$). При этом в очаге рака максимально выросла концентрация $C_{22:5\omega 3}$ (на 29 %), а в парадиспластических клетках – пул $C_{20:5\omega 3}$ (на 25 %).

Сравнительный анализ межгрупповых показателей состава ВЖК под влиянием пропионата представлен на рис. 1.

После инкубации с $C_{3:0}$ только в клетках цервикального рака зарегистрировано снижение уровня насыщенных жирных кислот ($p < 0,001$), что связано со значительным уменьшением уровня пальмитиновой и стеариновой кислот на 30,3 и 10,0 % соответственно ($p < 0,001$). В очаге предрака, парадиспластических, паранеопластических и здоровых клетках снижалась концентрация только $C_{16:0}$, а пул остальных насыщен-

ных аналогов увеличивался. Причем достоверных различий внутри I клинической группы между их концентрациями не было, а максимальных значений они достигали в подгруппах ПА и ПБ.

Интересным выглядит факт нарастания вклада $C_{19:0}$ во всех биоптатах II группы под влиянием пропионата ($p < 0,02$). Следует отметить, что в I и контрольной группах эта кислота не верифицировалась.

Пул МНЖК под влиянием пропионата во всех исследуемых группах снижался, имея минимальное значение в локусе цервикального рака, что на 6,7; 3,8 и 1,8 % меньше, чем в подгруппах IA, IB и ПБ соответственно. Полученные результаты связаны с уменьшением концентраций $C_{14:1}$ и $C_{18:1}$ в локусе цервикального рака на 60,3 и 9,6 % по сравнению с контролем соответственно ($p < 0,001$).

Вклад ПНЖК под действием $C_{3:0}$ повышался во всех группах, достигая максимума в очаге неоплазии. Данный эффект связан с тотальным увеличением концентрации всех представителей полиеновых кислот на 10 % в среднем в локусе предрака и парадиспластических клетках (за исключением эйкозатриеновой кислоты, уровень которой увеличился в 2 раза в биоптатах подгруппы IB), на 29 % – в очаге рака и на 18 % – в парадиспластических клетках ($p < 0,001$).

Обсуждение

При злокачественной трансформации цервикального эпителия в пределах одного органа метаболизм ВЖК разнонаправлен.

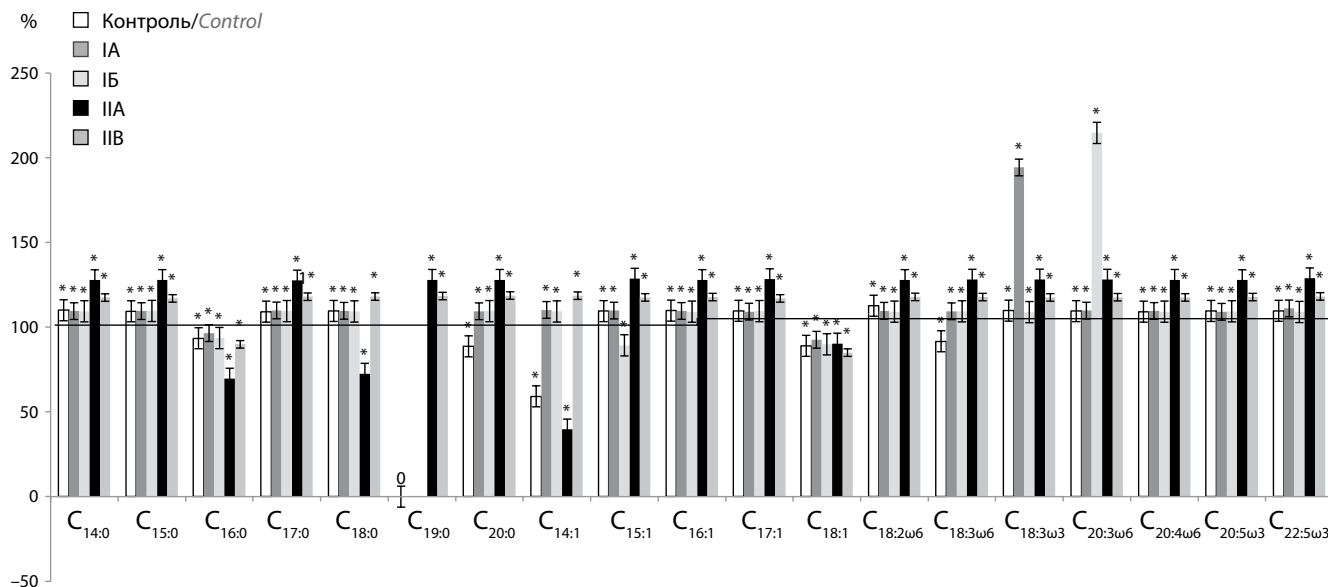


Рис. 1. Изменения пула высших жирных кислот в клетках шейки матки различной локализации при дис- и неопластической трансформации под влиянием пропионата. А – очаг предопухолового поражения шейки матки; Б – ткань без признаков диспластической трансформации; 100 % – показатели при изолированной инкубации.

Fig. 1. Changes in higher fatty acid pool in cervix uteri cells of different localizations with dys- and neoplastic transformation under the effect of propionate. А – premalignant lesion in the cervix uteri; В – tissue without signs of dysplastic transformation; 100 % corresponds to characteristics in isolated incubation.

*Достоверные различия между парными показателями одной группы в разных условиях инкубации.

*Significant differences between pairwise characteristics within a group in different incubation conditions.

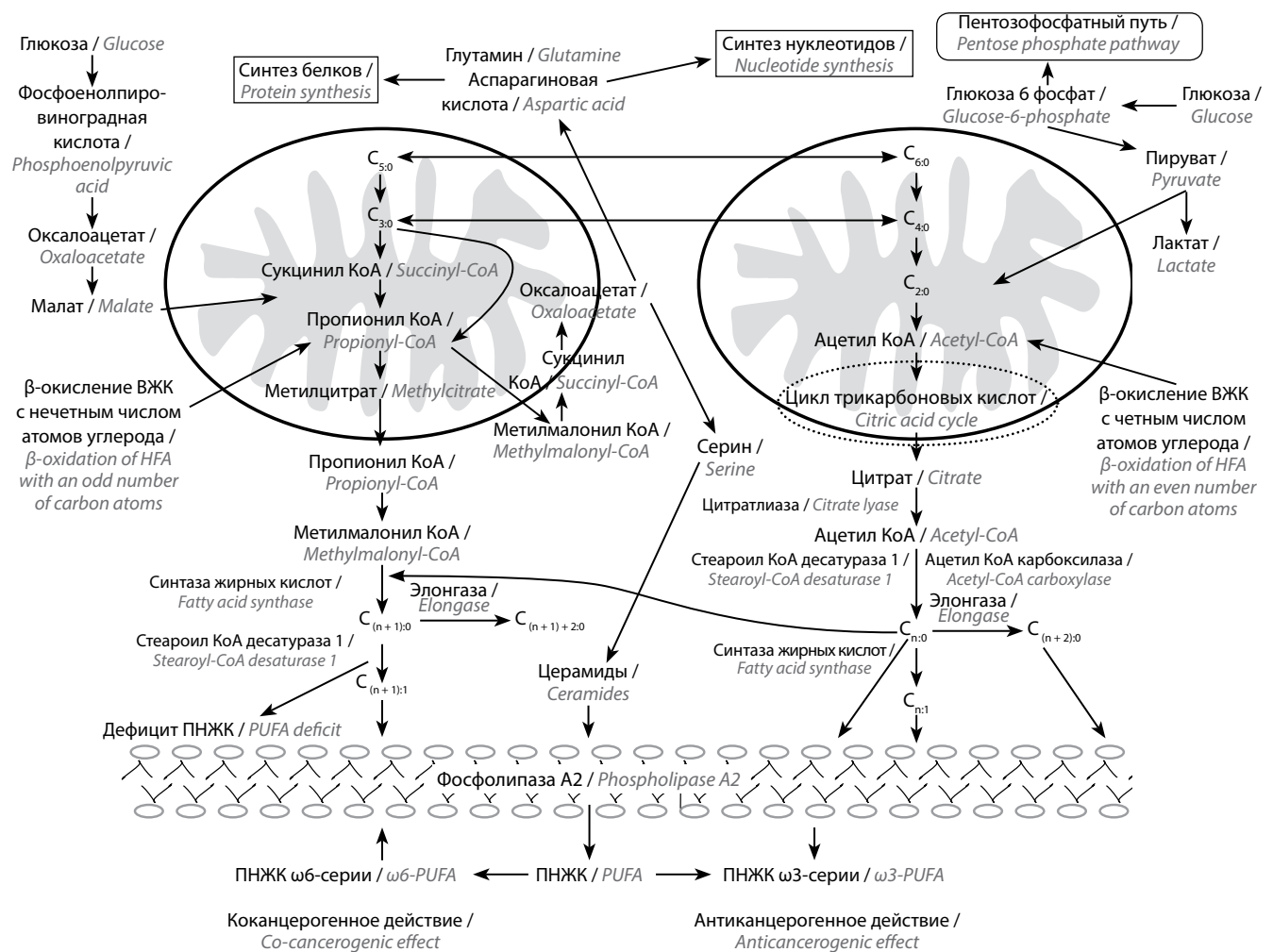


Рис. 2. Схема, иллюстрирующая возможные механизмы модификации жирнокислотного состава мембран клеток экзоцервикса при злокачественной трансформации. ВЖК – высшие жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; n – четное число атомов углерода
Fig. 2. Diagram illustrating the possible mechanisms of modification of fatty acid content in exocervical cell membranes during malignant transformation. HFA – higher fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids; n – number of carbon atoms

В клетках цервикального рака, вероятнее всего, имеет место пропионатный путь синтеза ВЖК с использованием пальмитата, что подтверждает факт детекции C_{19:0} на фоне снижения пула C_{16:0}. Полученные результаты согласуются с данными литературы, указывающими на возможность реализации синтеза ВЖК с нечетным числом атомов углерода с использованием пропионата при раке легкого и обострении псориаза [1, 5]. Дефицит C_{16:0} и C_{18:0} на фоне высоких концентраций C_{20:0}, C_{14:1}, C_{15:1}, C_{16:1}, C_{17:1} может указывать на интенсификацию реакций элонгации и десатурации в раковых клетках, что также подтверждено при других онкологических заболеваниях [6–7].

Известно, что метаболит пропионата – метилмалонил КоА – является ингибитором β-окисления жирных кислот, вероятно поэтому было зарегистрировано относительное накопление полиеновых аналогов во всех патологических группах [1].

При тяжелой цервикальной дисплазии метаболизм жирных кислот иной. Пальмитиновая кислота использовалась на образование стеариноата, который метаболлизировался в олеиноат.

При анализе результатов собственного исследования и данных литературы мы сформировали патогенетическую модель модификации состава ВЖК в клетках цервикального эпителия при злокачественной трансформации (рис. 2).

Заключение

Резюмируя, можно отметить особенности выявленных биохимических изменений в процессе цервикального канцерогенеза, что, с одной стороны, отражает этапность развития онкологического процесса, с другой – служит отражением «мозаичного» фенотипа опухолевых клеток.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Мартынов В.А. Об изменениях структуры и биохимических параметров в клетках под влиянием раковой трансформации и их восстановлении под влиянием средств, не обладающих противоопухолевой активностью. Вестник Тамбовского университета 2003;8(2):315–22. [Martynov V.A. On changes of cellular structure and biochemical parameters under malignant transformation and their restoration under the influence of agents without antitumor activity. Vestnik Tambovskogo Universiteta = Tambov University Review 2003;8(2):315–22. (In Russ.)].
2. Патент Российской Федерации на изобретение № 2117290. Бюл. 95109305/14. Хышиктеев Б.С., Хышиктеева Н.А., Иванов В.Н. Способ дифференциальной диагностики заболеваний бронхолегочной системы. [Patent of the Russian Federation for an invention No. 2117290. Bulletin 95109305/14. Khyshiktuev B.S., Khyshiktueva N.A., Ivanov V.N. Method of differential diagnosis of bronchopulmonary disorders. (In Russ.)].
3. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2018. CA Cancer J Clin 2018;68(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21442. PMID: 29313949.
4. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957;226(1):497–509. PMID: 13428781.
5. Караваева Т.М., Фалько Е.В., Медведев К.К. Взаимоотношения между уровнем высших жирных кислот в крови и эпидермисе при псориазе. Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию ЧГМА. Чита, 2008. РИЦ, 2008. С. 181–182. [Karavaeva T.M., Fal'ko E. V., Medvedev K.K. Relationship between the levels of higher fatty acids in blood and epidermis in psoriasis. Abstracts of the All-Russia Scientific and Practical Conference Dedicated to 55th Anniversary of Chita State Academy of Medicine. Chita, 2008. RITS, 2008. Pp. 181–182. (In Russ.)].
6. Byberg L., Kilander L., Warensjö Lemming E. et al. Cancer death is related to high palmitoleic acid in serum and to polymorphisms in the SCD-1 gene in healthy Swedish men. Am J Clin Nutr 2014;99 (3):551–8. DOI: 10.3945/ajcn.113.065714. PMID: 24368438.
7. Igal R.A. Stearoyl-CoA desaturase-1: a novel key player in the mechanisms of cell proliferation, programmed cell death and transformation to cancer. Carcinogenesis 2010;31(9):1509–15. DOI: 10.1093/carcin/bgq131. PMID: 20595235.

Вклад авторов

Е.В. Каюкова: анализ полученных данных, написание статьи;

Т.Е. Белокрынская: обзор публикаций по теме статьи;

П.П. Терешков: разработка дизайна исследования, выполнение лабораторной части исследования.

Authors' contributions

E.V. Kayukova: analysis of the obtained data, article writing;

T.E. Belokrinitskaya: reviewing of publications of the article's theme;

P.P. Tereshkov: developing the research design, implementation of the laboratory part of the study.

ORCID авторов

Е.В. Каюкова: <https://orcid.org/0000-0001-5231-9273>

Т.Е. Белокрынская: <https://orcid.org/0000-0002-5447-4223>

П.П. Терешков: <https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

ORCID of authors

E.V. Kayukova: <https://orcid.org/0000-0001-5231-9273>

T.E. Belokrinitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-5447-4223>

P.P. Tereshkov: <https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Государственного задания по научно-исследовательской работе на 2018 г.

Financing. The study was conducted under the State Task for Scientific Research in 2018.

Статья поступила: 22.02.2018. **Принята к публикации:** 15.05.2018

Article received: 22.02.2018. **Accepted for publication:** 15.05.2018