

С.П. Залеток  
 Н.К. Бердинських  
 Н.М. Лялюшко  
 В.І. Тарутінов  
 С.Ю. Скляр  
 Н.О. Александрова

## ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЗМУ ПОЛІАМІНІВ В ПУХЛИННИХ ТКАНИНАХ ТА В СЕЧІ ХВОРИХ З НОВОУТВОРЕННЯМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Інститут експериментальної  
 патології, онкології і  
 радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
 НАН України, Київ, Україна

Інститут онкології  
 АМН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** поліаміни,  
 орнітиндекарбоксилаза, пухлини  
 молочної залози, моніторинг  
 пухлинного процесу.

**Резюме.** Досліджено склад поліамінів (ПА) та визначено активність орнітиндекарбоксилази (ОДК) в пухлинах молочної залози. Результати біохімічних досліджень співставлені з клінічними і морфологічними даними. Встановлено, що в злоякісних пухлинах молочної залози, на відміну від доброякісних, активність ОДК і вміст ПА значно вищі, а в доброякісних — вищі, ніж в неураженій тканині молочної залози. Для злоякісних пухлин виявлено тенденцію до підвищення цих показників з розповсюдженням пухлинного процесу. Проведено довготривалі дослідження екскреції ПА з сечею (в активній фазі захворювання, під час лікування, в інтеркурентний період при ремісії, при виникненні рецидивів). Встановлено, що екскреція ПА з сечею у пацієнтів зі злоякісними пухлинами в активній фазі захворювання значно вища, ніж в стані ремісії. Результати проведених досліджень ПА сечі свідчать, що ПА-тест може бути використаний для прогнозування перебігу захворювання.

### ВСТУП

Одним з перспективних напрямків сучасної біології і медицини є вивчення поліамінів (ПА) — сперміну, спермідину, путресцину — ендогенних фізіологічних регуляторів клітинного метаболізму і ферментів їх обміну, зокрема, орнітиндекарбоксилази (ОДК) [1, 2]. Оскільки ПА беруть безпосередню участь в процесах росту, поділу та диференціювання клітин, вивченню ролі цих речовин при злоякісному рості приділяється особлива увага. Протягом останніх років досягнуті значні успіхи в дослідженні ПА при неопластичному рості. Результати численних робіт, які присвячені вивченню ПА, свідчать, що при трансформації клітин відбувається дерегуляція активності ОДК і метаболізму ПА; виявлені характерні особливості метаболізму ПА при канцерогенезі і пухлинному рості у тварин, а також в злоякісних пухлинах певних локалізацій у людини [1, 3–7]. Проте в пухлинах молочної залози людини метаболізм ПА вивчений недостатньо.

Метою даної роботи було визначення активності ОДК і складу ПА в пухлинах молочної залози хворих і співставлення результатів біохімічних досліджень з клінічними і морфологічними даними, а також дослідження ПА у сечі цих хворих та визначення можливої кореляції результатів ПА-тесту з перебігом захворювання та наявністю метастазів.

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначення активності ОДК і вмісту ПА в пухлинах проведені на операційному матеріалі 52 хворих з пухлинами молочної залози (36 хворих на рак молочної залози, 16 хворих з доброякісними пухлинами), які перебували на лікуванні в Інституті онкології АМН України. Хворі на рак молочної залози були розподілені на групи відповідно до клінічної стадії захворювання: у 26 пацієнток була виявлена

II, у 10 — III стадія. Передопераційну протипухлинну терапію хворим не проводили.

При гістологічному аналізі операційного матеріалу у хворих на рак молочної залози виявлені такі типи злоякісних пухлин: скірозний рак (11), інфільтруючий залозистий рак (19), неінфільтруючий залозистий рак (3), інфільтруючий з низькою диференціацією (3). У хворих з доброякісними захворюваннями діагностували фіброаденому (9 випадків) та локалізований вузловий фіброаденоматоз (7 випадків). Для біохімічних досліджень брали зразки тканини пухлин молочної залози, у частини хворих — також зразки макроскопічно незміненої тканини та тканини на межі з пухлиною. У зразках тканини визначали активність ОДК і концентрацію ПА. Визначення активності ОДК проводили за модифікованим нами методом [8], вміст ПА в тканинах — за методом Abdel-Monem і Ohno [9], концентрацію білка визначали за Greenberg [10]. Дослідження ПА у сечі проведені у 70 хворих (крім зазначених вище, рівень ПА у сечі визначали також у 10 хворих, в яких була виявлена I, та у 8 — IV стадія захворювання). Концентрацію ПА у сечі визначали за модифікованим нами методом [11] при первинному зверненні, після проведеного лікування, під час профілактичних обстежень в інтеркурентний період, при появі рецидиву захворювання. Статистичну обробку даних проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявлено, що активність ОДК в тканині злоякісних пухлин в 5,5 разу вища, ніж в макроскопічно незмінній тканині молочної залози. У тканині, прилеглій до пухлини, активність ОДК в 2,7 разу нижча, ніж в пухлині, але в 2 рази вища порівняно з активністю ферменту в незмінній тканині (табл. 1). Рівень

Активність ОДК і вміст ПА в тканині злоякісних пухлин залежно від гістологічного типу (M ± m)

Гістологічний тип пухлин	Вміст ПА, нмоль/мг білка			Активність ОДК, пмоль путресцину/мг білка за 1 год
	Путресцин	Спермідин	Спермін	
Скірозний рак	29,7 ± 3,5*	33,0 ± 1,2*	21,7 ± 1,8*	27,3 ± 1,5*
Інфільтруючий залозистий рак	18,4 ± 4,1	27,3 ± 0,8	15,6 ± 1,5	23,4 ± 0,5

\* p &lt; 0,01.

стей показників обміну ПА при інших гістологічних типах пухлин молочної залози необхідно продовження досліджень та досягнення статистично достатніх виборок окремих типів пухлин.

Результати досліджень, проведених нами раніше, свідчать, що екскреція ПА з сечею у хворих зі злоякісними пухлинами молочної залози достовірно перевищує їх екскрецію як у здорових осіб, так і у хворих з доброякісними пухлинами [1]. Вивчення впливу лікування (хірургічне видалення пухлини, хіміо- та променева терапія) на концентрацію ПА в сечі та крові показало, що після хірургічного видалення пухлини екскреція ПА з сечею різко знижується. Ефективна хіміотерапія в перші дні лікування спричиняє підвищення ПА в крові та сечі, тоді як неефективна терапія не впливає на концентрацію ПА. Після ефективною хіміо- і радіотерапії, як і після хірургічного видалення пухлини, концентрація ПА в фізіологічних рідинах нормалізується [1, 5, 11–15]. Разом з тим, довготривале дослідження ПА в сечі у хворих з пухлинами молочної залози майже не проводилося. Тому другим завданням роботи було вивчення рівня ПА в сечі хворих з пухлинами молочної залози при їх довготривалому обстеженні для визначення залежності цих показників від перебігу захворювання (активна фаза, стан ремісії або поява рецидивів), а також від наявності метастазів.

Дані проведеного дослідження свідчать, що у хворих з доброякісними пухлинами вміст ПА в сечі підвищений порівняно з сумарним показником екскреції у практично здорових людей (7,2 ± 0,4 мг/добу) [1, 11] і в середньому становить 13,3 ± 3,7 мг/добу (p < 0,05). Рівень екскреції ПА у хворих на рак молочної залози (незалежно від стадії) підвищений як у порівнянні з фізіологічною нормою (в 4,8 рази), так і з хворими з доброякісними пухлинами (в 2,6 рази) (табл. 4).

Таблиця 4

Екскреція ПА з сечею у хворих з пухлинами молочної залози (M ± m)

Діагноз	Вміст ПА, мг/добу				
	Путресцин	Спермідин	Спермін	Кадаверин	Загальний вміст ПА
Рак молочної залози	9,7 ± 1,9*	14,7 ± 2,1*	8,4 ± 1,5*	2,7 ± 2,1	34,9 ± 4,5*
Доброякісні пухлини молочної залози	3,1 ± 1	5,5 ± 1,2	2,4 ± 1	2,3 ± 0,8	13,3 ± 3,7

\* p &lt; 0,01.

Встановлено також, що рівень ПА в сечі у пацієнток в активній фазі процесу значно вищий (p < 0,02) порівняно з таким у стані ремісії (рис. 1).

Індивідуальні коливання концентрації ПА в сечі віддзеркалювали перебіг захворювання. Як приклад наводимо динаміку вмісту ПА у сечі хворої Н. (рак молочної залози III стадії): до лікування сумарний вміст

активності ОДК у доброякісних пухлинах молочної залози в 3,7 рази нижчий, ніж у злоякісних пухлинах, але в 2 і в 1,5 рази вищий, ніж в незмінній тканині молочної залози хворих з доброякісними і злоякісними пухлинами відповідно (див. табл. 1).

Вміст ПА в злоякісних пухлинах в декілька разів перевищує такий в неуразеній тканині і значно вищий, ніж в прилеглій до пухлини тканині. Так, кількість путресцину в злоякісних пухлинах складала 356%, спермідину — 402%, сперміну — 482% порівняно з їх вмістом в неуразеній тканині молочної залози (див. табл. 1). Слід зазначити, що концентрація ПА в тканині доброякісних пухлин також підвищена. Так, сумарна кількість ПА в доброякісних пухлинах становить 154% порівняно з незмінною тканиною молочної залози, але як сумарна концентрація ПА, так і вміст їх окремих фракцій значно менший від такого в злоякісних пухлинах.

У табл. 2 представлені результати дослідження рівня активності ОДК і вмісту ПА в пухлинах залежно від клінічної стадії захворювання. Встановлено, що при II і III стадіях захворювання активність ОДК і концентрація ПА в тканині пухлин майже не відрізняються (p > 0,05). Можна спостерігати лише незначно виражену тенденцію до підвищення активності ОДК і вмісту ПА за умови поширення пухлинного процесу. Різниця в рівнях активності ОДК і концентрації ПА в зразках незмінної тканини і тканини на межі з пухлиною при II і III стадіях також незначуща (p > 0,05) (див. табл. 2).

Аналіз досліджуваних показників залежно від гістологічного типу пухлин ми проводили лише у хворих зі скірозним та інфільтруючим залозистим раком. Групи хворих з іншими гістологічними типами пухлин молочної залози були недостатніми для математичної обробки результатів та обґрунтованих висновків.

Виявлено, що активність ОДК і вміст як сумарних ПА, так і їх фракцій при скірозному раку вищі порівняно з інфільтруючим залозистим раком (табл. 3), особливо щодо вмісту сперміну. Для визначення особливо-

Таблиця 1

Активність ОДК і вміст ПА у макроскопічно незмінній тканині (а), тканині, прилеглій до пухлини (б), пухлинах (в) молочної залози людини (M ± m)

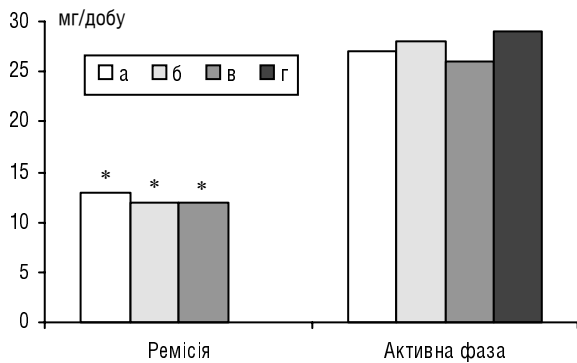
Вид пухлини	Вид тканини	Вміст ПА, нмоль/мг білка			Активність ОДК, пмоль путресцину/мг білка за 1 год
		Путресцин	Спермідин	Спермін	
Злоякісні	а	4,8 ± 1,8	7,2 ± 1,6	4,8 ± 1,4	4,1 ± 0,9
	б	8,3 ± 1,7*	15,7 ± 3,1*	12,8 ± 2,8*	8,3 ± 2,5*
	в	17,3 ± 3,2**	28,9 ± 4,1**	23,4 ± 4,5**	22,5 ± 5,3**
Доброякісні	а	3,7 ± 0,6	7,6 ± 0,8	3,9 ± 0,5	3,1 ± 0,3
	б	4,7 ± 1,2	6,4 ± 0,5	3,8 ± 0,3	4,8 ± 0,6
	в	6,0 ± 0,3	8,5 ± 0,5	8,8 ± 1,2	6,1 ± 0,6

\* p &lt; 0,05; \*\* p &lt; 0,01.

Таблиця 2

Активність ОДК і вміст ПА у макроскопічно незмінній тканині (а), тканині, прилеглій до пухлини (б), злоякісних пухлинах (в) молочної залози людини залежно від клінічної стадії (M ± m)

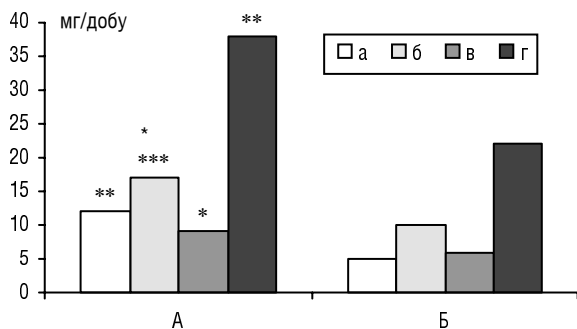
Стадія	Вид тканини	Вміст ПА, нмоль/мг білка			Активність ОДК, пмоль путресцину/мг білка за 1 год
		Путресцин	Спермідин	Спермін	
II	а	4,2 ± 1,5	7,0 ± 1,8	5,3 ± 1,6	4,1 ± 1,2
	б	8,1 ± 1,9	15,4 ± 3,4	13,0 ± 2,5	10,2 ± 2,3
	в	16,6 ± 3,8	28,5 ± 4,5	21,8 ± 3,4	21,2 ± 3,6
III	а	5,9 ± 2,1	7,6 ± 1,4	3,7 ± 1,3	4,1 ± 0,8
	б	8,9 ± 1,8	16,4 ± 2,5	12,2 ± 3,4	6,8 ± 1,5
	в	18,7 ± 2,5	29,9 ± 3,8	27,1 ± 5,4	24,0 ± 4,2



**Рис. 1.** Екскреція ПА з сечею хворих зі злоякісними пухлинами молочної залози в активній фазі захворювання і при ремісії (а — I стадія, б — II стадія, в — III стадія, г — IV стадія)

ПА у сечі становив 39 мг/добу, після хірургічного видалення пухлини — 32,8 мг/добу; через 1 міс у хворої був клінічно діагностований рецидив з метастазами в легені, лімфовузлах і м'яких тканинах. **Хвора Д.** (рак молочної залози III стадії): до лікування рівень ПА становив 22,5 мг/добу; після операції і хіміотерапії концентрація ПА в сечі різко знизилася (10 мг/добу); через 6 міс у хворої виявили рецидив пухлинного процесу, концентрація ПА сечі при цьому становила 29 мг/добу; після повторної операції і променевої терапії екскреція ПА знизилася до фізіологічних величин.

Аналіз залежності вмісту ПА у сечі хворих від наявності у них метастазів показав статистично значуще підвищення екскреції ПА у хворих з метастазами порівняно з хворими без метастазів (рис. 2).



**Рис. 2.** Екскреція ПА з сечею хворих зі злоякісними пухлинами молочної залози залежно від наявності метастазів (А — метастази є, Б — метастазів немає, а — спермін, б — спермідин, в — путресцин, г — сумарні ПА; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,02$ ; \*\*\*  $p < 0,01$ )

Отже, результати досліджень свідчать, що в злоякісних пухлинах молочної залози активність ОДК і вміст ПА значно вищі порівняно з такими в доброякісних пухлинах. Виявлена тенденція до підвищення цих показників з розповсюдженням пухлинного процесу. Результати довготривалого дослідження ПА сечі свідчать, що ПА-тест доцільно використовувати як метод визначення активності пухлинного процесу і прогнозування перебігу захворювання. Використання ПА-тесту при спостереженні за хворими в період ремісії може сприяти своєчасному виявленню субклінічних проявів рецидивів і забезпечити ефективне їх лікування.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бердинских НК, Залеток СП. Полиамины и опухолевый рост. Киев: Наук думка, 1987. 141 с.

2. Cohen SS. A guide to the Polyamines. New York: Oxford University Press, 1998. 240 p.

3. Pegg AE. Polyamine metabolism and its importance in neoplastic growth and a target for chemotherapy. *Cancer Res* 1988; **48**: 759–74.

4. Gerner EW, Garewal HS, Emerson SS, Sampliner RE. Gastrointestinal tissue polyamine contents of patients with barrettes-esophagus treated with a-DFMO. *Cancer epidemiol. biomarkers prevent* 1994; **3**: 325–30.

5. Bachrach U. Polyamines and neoplastic transformation. In: K. Nishioka (Ed.) *Polyamines in cancer: basic mechanism and clinical approaches*. Ganes bioscience publishers. Austin, 1996. 45–74.

6. Manni A, Gimotty P, Badger B. Prognostic influence on survival of increased ornithine decarboxylase activity in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 1996; **2**: 1901–6.

7. Kubo S, Tamori A, Nishiguchi S, et al. Relationship of polyamine metabolism to degree of malignancy of human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 1998; **5**: 1385–8.

8. Березов ТТ, Сяткин СП. Флюориметрический метод определения активности орнитиндекарбоксилазы из тканей животных. *Бюл эксперим биологии и медицины* 1986; (1): 119–22.

9. Abdel-Monem MM, Ohno K. Separation of the DNS-derivatives of polyamines and related compounds by thin-layer and high pressure liquid chromatography. *Chromatogr* 1975; **107**: 416–9.

10. Greenberg C, Graddock P. Rapid single step membrane protein assay. *Clin Chem* 1982; **28**: 1725–6.

11. Залеток С.П. Екскреція поліамінов при злоякісному рості [Автореф дис ... канд біол наук]. Київ, 1977. 25 с.

12. Bergeron C, Bansard JY, Le-Moine P, et al. Erythrocyte spermine levels: a prognostic parameter in childhood common acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1997; (11): 31–6.

13. Peng A, Zhao S, Zhang X, Zhang C. Clinical evaluation of polyamine assay in diagnostic of malignant ascites. *Human I Ko Ta Hsueh Pao* 1997; (22): 63–5.

14. Lee SH, Suh JW, Chung BC, Kim SO. Polyamine profiles in the urine of patients with leukemia. *Cancer Lett* 1998; **122**: 1–8.

15. Taniguchi M, Minoshima K, Takeuchi T, et al. Changes in blood polyamine levels following chemotherapy in patients with invasive urinary bladder carcinoma. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1998; **89**: 434–40.

## POLYAMINE METABOLISM IN TUMOR TISSUES AND URINE OF PATIENTS WITH BREAST TUMORS

S.P. Zaletok, N.K. Berdinskikh, N.M. Lialishko, V.I. Tarutinov, S. Yu. Skliar, N.O. Aleksandrova

**Summary.** The composition of polyamines and ornithine decarboxylase (ODC) activity in breast tumors are studied. Biochemical results are compared with clinical and morphological data. It is shown that ODC activity and polyamine contents in malignant breast tumors are significantly higher than in benign ones; and in the latter ones the indices are significantly higher than in normal breast tissue. It is revealed that in malignant breast tumors these indices tend to increase with the dissemination of tumor process. In these patients long-term monitoring of polyamines content in urine was carried out during an active phase of the disease, during treatment, during an intercurrent phase, in remission, and in relapses. It is found that in the patients with malignant tumors during active stage, polyamines excretion in urine is much higher than in remission. The results of investigation of polyamines content in urine indicate that the polyamine test may be used as one of the markers of tumor process activity and for prognosis of disease.

**Key Words:** polyamines, ornithine decarboxylase, breast tumors, monitoring of tumor expansion.