

## ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

УДК 577.15: [616-002.44 + 616.33-006.6]- 053.008

## ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ОБМІНУ НУКЛЕОТИДІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ВИРАЗКОЮ ТА РАКОМ ШЛУНКА

Бакурова О.М., Зуйков С.О., Жебеленко Я.Г.

*Донецький національний медичний університет ім. М.Горького, кафедра біохімії, м. Донецьк*

**РЕЗЮМЕ:** у пацієнтів з виразковою хворобою та супутнім розвитком передракових змін активність ферментів обміну нуклеотидів наближається до їх активності у хворих на рак шлунка. Це дозволяє віднести таких хворих до групи підвищеного онкологічного ризику, особливо після 40 років, коли зміни метаболізму найбільш виражені. Запропоновано ферментативні тести для формування груп підвищеного онкоризику та для прогнозування розвитку ускладнень виразкової хвороби.

**Ключові слова:** виразка, рак, ензими, проліферація, онкоризик

**Вступ.** Відомо, що наявність виразки шлунка підвищує ризик виникнення пухлини [3]. Ймовірність пухлинної трансформації виникає не тільки в периульцерозній зоні, а й у віддалених від виразки ділянках слизової оболонки шлунка (СОШ), що значно ускладнює ранню діагностику. До того ж традиційні методи доопераційної діагностики, на жаль, мають певний процент як хибнонегативних, так і хибнопозитивних результатів. Отже, „залишається актуальним вибір лабораторних показників для формування групи підвищеного онкологічного ризику серед хворих із хронічними захворюваннями шлунка” [2], пошуку додаткових маркерів, які можуть допомогти в ранній діагностиці раку.

Зміни проліферативного режиму, активація процесів апоптозу, порушення мікроциркуляції та гіпоксія СОШ – загальні ланки патогенезу, як виразкової хвороби (ВХ), так і раку шлунка (РШ). Ензими „запасного шляху” синтезу піримідинових нуклеотидів та катаболізму пуринових нуклеотидів – тимідинфосфорилаза (ТФ, PD-ECGF; КФ 2.4.2.4), аденозиндезаміназа (АДА, КФ 3.5.4.4). Вони пов’язані з процесами тканинної проліферації та апоптозу, є чутливими до змін процесів оксигенації. Нами одночасно досліджено особливості деградації тимідина та його ресинтеза. Про швидкість катаболічної і зворотної реакцій можна судити за показниками активності так званих катаболічної та анаболічної ТФ (відповідно ТФк і ТФан). В останні роки активно досліджується прогностична значимість ТФ. Встановлено, що за рівнями її експресії чи за активністю можна діагностувати: рецидив пухлини [7]; її прогресію [ 5, 10]; робити прогноз виживання [10, 9], в тому числі, при раці шлунка [6].

**Мета дослідження.** Виявити зміни активності ферментів у тканинах СОШ та крові при виразковій хворобі та у хворих на рак шлунка. Визначити метаболічні порушення, що можуть призвести до неопластичної трансформації при виразковій хворобі шлунка.

**Матеріали та методи.** В ході роботи досліджена кров 74 хворих на ВХ, 40 хворих на РШ у віці від 20 до 79 років; тканини СОШ в місцях виразок та у віддалених ділянках у 20 хворих на ВХ, аналогічно обстежено 41 зразок при раці шлунка. Контрольну групу склали 56 умовно здорових осіб, що не мали патології гастродуоденальної зони.

Активність ТФ визначали за збільшенням екстинкції тиміну (ТФк) та тимідину (ТФан) на СФ-46 при довжині хвилі 300 нм [1]. Активність ключового ферменту катаболізму аденозина – АДА досліджували в гомогенатах тканин, сироватці і еритроцитах крові за методом Tritch, 1953 [1]. При статистичній обробці результатів застосовувались параметричні та непараметричні показники, вивчено кореляційні зв’язки з використанням програм пакету «MedStat».

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами досліджень ферментативної активності в сироватці крові встановлено, що в здоровому організмі активність ферментів має вікові особливості (табл.1). Так, у сироватці крові здорових чоловіків до 30 років спостерігається підвищення активності ТФан, активність ТФк достовірно наростає після 60 років, показники активності сироваткової АДА у чоловіків відносно стабільні.

За активністю ферментів група пацієнтів із ВХ виявилася неоднорідною та розділилася на дві групи (1 і 2 групи). При аналізі результатів пато-

морфологічного дослідження виявлено, що в 2-й групі в переважній більшості випадків перебіг хвороби був ускладнений кровотечами або стенозуванням, перфорацією або ж пенетрацією. Вважаємо прогностично важливим той факт, що ускладнений перебіг поєднувався з наявністю передракового стану – хронічного атрофічного гастриту (ХАГ) і, як правило, з розвитком передракових змін СОШ, тобто дисплазій різного ступеня і (або) кишкової метаплазії. Так, при неускладненій течії ВХ (1-а група ВХ) встановлено достовірну зміну активності лише ТФк в порівнянні з контролем. В 2-й групі ВХ – достовірне зростання активності ТФан та зниження активності ТФк. Щоб дослідити вікову тенденцію до накопичення або, навпаки, деградації тимідину, ми пропонуємо показник співвідношення тимідин/тимін (надалі – ТФан/ТФк). У пацієнтів 1-ї групи ВХ цей показник в сироватці крові перевищує контроль –  $0,31 \pm 0,03$  ( $0,18 \pm 0,05$ ), досягаючи максимуму в 40-60 років –

$0,43 \pm 0,02$  (W критерій Вілкоксона 193,5,  $p < 0,001$ ). В 2-й групі ВХ його значення ще вищі, після 40 років у хворих цієї групи значення ТФан/ТФк перевищують контрольні в 4,3-4,9 разу –  $0,89 \pm 0,03$  (в 20-39 років – в 3,7; W-критерій 21,0,  $p < 0,001$ ), наближаючись до значень при РШ. Таким чином, у цій групі ВХ встановлено нетипове для контрольної групи і навіть для 1-ї групи ВХ підвищення показника співвідношення тимідин/тимін (ТФан/ТФк). Це узгоджується з даними про наростання рівнів Ki-67 антигена (показник клітинної проліферації) при атрофічному гастриті та його максимальні значення у вогнищах неповної кишкової метаплазії [3]. Це дозволяє говорити про накопичення тимідину, отже, і його нуклеотиду у таких хворих після 40 років. Це може привести до підвищення онкоризику, оскільки вважають, що тимідинмонофосфат лімітує швидкість синтезу ДНК [8].

Таблиця 1

Активність ферментів у сироватці крові здорових чоловіків, хворих на виразкову хворобу, хворих на рак шлунка залежно від віку, нмоль/хв/мг

Діагноз	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
ТФк					
Контроль	$41,61 \pm 4,03$	$43,84 \pm 3,20$	$46,21 \pm 2,44$	$56,85 \pm 2,33$	$58,72 \pm 2,53$
1-а гр. ВХ	$30,94 \pm 4,05$	$28,50 \pm 5,04^*$	$25,72 \pm 5,54^*$	$32,98 \pm 3,69^*$	$24,81 \pm 4,80^{**}$
2-а гр. ВХ	$17,00 \pm 7,00^{**}$	$17,78 \pm 4,29^*$	$14,89 \pm 4,90^{**}$	$16,49 \pm 4,02^{**}$	-
РШ	-	$17,64 \pm 2,80^{**}$	$13,47 \pm 1,32^{**}$	$17,08 \pm 2,50^{**}$	$20,16 \pm 3,22^{**}$
ТФан					
Контроль	$9,70 \pm 0,53$	$9,18 \pm 0,36$	$9,03 \pm 0,36$	$9,40 \pm 0,68$	$8,91 \pm 0,48$
1-а гр. ВХ	$9,91 \pm 0,40$	$12,30 \pm 1,34^*$	$11,01 \pm 0,61$	$11,13 \pm 0,88$	-
2-а гр. ВХ	$14,48 \pm 3,02$	$16,11 \pm 2,00^*$	$13,26 \pm 1,31^*$	$13,69 \pm 1,27^*$	$13,98 \pm 0,84^*$
РШ	-	$18,40 \pm 1,88^*$	$16,15 \pm 2,54^*$	$17,09 \pm 2,81^*$	$19,01 \pm 1,37^*$
АДА					
Контроль	$2,23 \pm 0,22$	$2,36 \pm 0,24$	$2,00 \pm 0,20$	$2,38 \pm 0,35$	$2,10 \pm 0,21$
1-а гр. ВХ	$3,05 \pm 0,42$	$3,56 \pm 0,44$	$4,19 \pm 0,41^*$	$3,53 \pm 0,30$	-
2-а гр. ВХ	$4,64 \pm 0,83^*$	$4,72 \pm 0,57^*$	$4,29 \pm 0,15^*$	$4,74 \pm 0,35^*$	$5,14 \pm 0,61^*$
РШ	$6,13 \pm 0,49^*$	$6,25 \pm 0,58^*$	$6,46 \pm 0,57^*$	$6,00 \pm 0,78^*$	$7,09 \pm 1,08^*$

Примітка: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з контролем

Таке припущення узгоджується з даними про наростання активності АДА в сироватці крові у пацієнтів 2-ї групи і у хворих РШ. Причому при РШ вона достовірно вище в порівнянні з активністю в 1-й групі ВХ. Відомо, що АДА може постачати субстрати для „запасного” шляху синтезу нуклеотидів та забезпечувати посилення його активності в пухлинних клітинах [4].

Дані про зміни ферментативної активності в тканинах СОШ (див. табл. 2) співвідносяться з

активністю сироваткових ферментів. Для тканинної АДА виявлено підвищення активності в місцях ураження (Locus morbi) в 2-й гр ВХ (W критерій Вілкоксона 55,0,  $p < 0,001$ ) і при РШ (W 233,0,  $p < 0,001$ ). Підвищення активності АДА в зоні виразки у хворих на ВХ 2-ї гр., в пухлинах при РШ корелює із зростанням її активності в сироватці крові та узгоджується з результатами інших досліджень [4].

Таблиця 2

Активність ферментів у тканинах СОШ у хворих на ВХ та РШ, нмоль/хв/мг

Діагноз	ТФан		ТФк		АДА	
	СОШ	Locus morbi	СОШ	Locus morbi	СОШ	Locus morbi
ВХ 1-а гр	37,68 ± 4,18	62,00 ± 7,13**	63,89 ± 5,96	33,84 ± 2,95**	7,57 ± 2,05	10,83 ± 2,39
ВХ 2-а гр.	40,05 ± 5,96	83,75 ± 6,22***	62,04 ± 6,40	25,50 ± 2,50***	9,15 ± 1,28	18,73 ± 5,17*
РШ	40,46 ± 4,77	88,01 ± 5,32***	57,82 ± 7,99	21,92 ± 4,60***	13,91 ± 2,68	24,15 ± 4,32*

Примітка: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з СОШ

Встановлені зміни тканинної АДА ведуть до посилення активності «запасного шляху синтезу» попередників ДНК, що узгоджується з встановленим наростанням рівней тимідину в СОШ. Інші автори також вказують на зв'язок ТФ з інтенсивністю проліферації [5, 6, 10].

**Висновки.** Таким чином, у ході дослідження підтверджено кореляцію між змінам активності сироваткових ензимів з їх відповідною активністю в СОШ. У тканинах, порівняно з віддаленими ділянками, в зоні виразки спостерігається зростання рівней тимідину. При наявності передракових змін

в СОШ це супроводжується зростанням активності АДА, що подібно до змін при РШ та веде до посилення активності „запасного шляху” синтезу ДНК. Встановлені зміни метаболізму попередників ДНК пов'язані з особливостями проліферативної активності при ВХ та РШ. При ускладненнях ВХ із супутнім розвитком передракових змін у СОШ обмінні процеси перебігають подібно до пухлинних. Слід говорити про збільшення онкоризику в таких хворих після 40 років і необхідності спостереження за цими біохімічними показниками в динаміці.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Борзенко Б.Г., Кульчицкий О.К., Бакурова Е.М. Возрастные аспекты метаболизма тимидинмонофосфата и возможные пути его контроля // Пробл. старения и долголетия. – 2002. – Т.11, №4. – С. 363–369.
2. Диагностическое значение антиоксидантного статуса при диспластических изменениях слизистой оболочки и раке желудка / Н.В.Бочкарева, Л.А. Коломиец, И.В. Кондакова, С.Л. Стуканов // Биохимия. – 2000. – № 3 – С. 13-16.
3. Предрак и рак желудка: этиология, патогенез, морфология, лечебный патоморфоз: Монография/ И.В.Василенко, В.Д. Садчиков, К. А. Галахин и др. – К.: Книга плюс, 2001. – 232с.
4. Activities of adenosine deaminase and 5'-nucleotidase in cancerous and noncancerous human colorectal tissues/ Eroglu A., Canbolat O., Demirci S.et.al. // Med. Oncol–2000.-Vol.17, №4.–P. 319-324.
5. Arima J., Imazono Y., Takebayashi Y. Expression of thymidine phosphorylase as an indicator of poor prognosis for patients with transitional cell carcinoma of the bladder // Cancer. – 2000. – Vol. 88, №5. – P. 1131– 1138.
6. Kosaka T., Usami K., Ueshige N. Effects of thymidine phosphorylase levels in cancer, background mucosa, and regional lymph nodes on survival of advanced gastric cancer patients receiving postoperative fluoropyrimidine therapy // Oncol. Rep. – 2004. –Vol.12, №6. – P. 1279–1286.
7. Li S., Nomata K., Sawase K. Prognostic significance of platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase expression in stage pT1 G3 bladder cancer // Int. J. Urol. – 2001. – Vol.8, №9. – P. 478– 482.
8. O'Neil, K.L., Grigsby R.V., Fairbairn D.W. Thymidine Kinase: the future in breast cancer prognosis // The Breast. – 1995.- Vol. 4, № 2.- P.79-83.
9. Platelet-derived endothelial cell growth factor expression is an independent prognostic factor in colorectal cancer patients after curative surgery / Tsuji T., Sawai T., Yamashita H. et al.// Eur. J. Surg. Oncol. – 2004. –Vol.30, №3. – P. 296–302.
10. The value of platelet-derived endothelial cell growth factor as a novel predictor of advancement of uterine cervical cancers / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki. T. Tamaya // Cancer Res. – 2000. –Vol.60, №13. – P. 3662–3665.

## SUMMARY

### THE CHANGES OF NUCLEOTIDES ENZYMES ACTIVITY IN PATIENTS WITH PEPTIC ULCER AND STOMACH CARCINOMA

**Bacurova H.M., Zuykov S.A., Zhebelenko Y.G**

Age-dependant peculiarities of marker enzymes activity of nucleotide metabolism were revealed both in normal health and under the researched pathological states. The activity of nucleotide metabolism enzymes in patients with ulcer and accompanying development of precancerous changes is close to their activity under stomach cancer. This allows considering those patients as belonging to the group of higher oncological risk, especially after 40. Enzyme testes were proposed, which may be used when forming groups of higher oncological risk, when forecasting ulcer complications development.

**Key words:** ulcer, cancer, enzymes, proliferation, oncological risk