

**Бен Мессауд Ершид
О.П. Пересунько**

Буковинський державний медичний
університет

Ключові слова: кровотечі в менопаузі, лактатдегідрогенази, про- та антиоксидантні показники, криві.

АКТИВНІСТЬ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ, ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЖІНОК ІЗ КРОВОТЕЧАМИ В ПОСТМЕНОПАУЗІ

Резюме. Вивчені діагностичні можливості лактатдегідрогенази, про- та антиоксидантних показників крові жінкам з атрофією, гіперплазією, поліпами ендометрія та раком тіла матки при кровотечах в постменопаузі. Показано, що вміст у крові окисно-модифікованих білків, відновленого глутатіону, каталази різко знижений, а лактатдегідрогенази, малонового альдегіду, церулоплазміну значно вищі при мазінізації. Визначення в крові хворих цих показників може стати перспективним напрямком в диференційній діагностиці причин кровотеч у жінок у постменопаузі.

Вступ

Передракові захворювання та рак ендометрія є одними із найрозповсюдженіших гінекологічних захворювань, особливо у жінок в постменопаузі [2,10]. Слабкою ланкою в проблемі профілактики раку цієї локалізації є раннє виявлення та ефективне лікування передракових станів ендометрія [2,11,12].

У нашій роботі показана спроба біохімічного підходу до диференційної діагностики різноманітних передракових станів ендометрія та раку в жінок з кровотечами в постменопаузі. Широко використовуються апаратні (ультразвук, комп'ютерна томографія) та морфологічні методи діагностики [2].

На сьогодні інтерес багатьох дослідників привертає увагу вивчення лактатдегідрогенази, системи глутатіону та ферментів його обміну, які відіграють важливу роль в енергетичному обміні, синтезі ДНК, антиоксидантному та радіаційному захисті, а також як сульфгідрильний буфер клітин [4,9].

Мета дослідження

Порівняти показники лактатдегідрогенази, про- та антиоксидантного стану крові у жінок атрофією, гіперплазією, поліпами та раком ендометрія при кровотечах в постменопаузі з метою їх диференційної діагностики.

Матеріал та методи

Обстежено 64 жінки, яким з приводу кровотечі в менопаузі зроблено діагностичне вишкрібання стінок порожнини матки у відділенні гормонозалежних пухлин Чернівецького обласного онкологічного диспансеру. У 10 жінок при гістологічному дослідженні зішкрібу знайдений нормальний ендометрій (у фазі секреції), у 16 жінок - атрофія

ендометрія, у 12 - гіперплазія, у 13 - поліпи ендометрія. Рак ендометрія діагностований у 13 жінок. Контрольну групу склали 16 практично здорових.

Усім хворим проводилося клінічне дослідження (скарги, загальний та акушерсько-гінекологічний анамнез, стан статевої, менструальної та репродуктивної функцій, гінекологічне бімануальне дослідження). При виконанні аналізів крові та сечі використовували загальноприйняті в клініці методи. Ультразвукове дослідження виконане на апараті Aloka 280 (Японія) Чернівецького обласного онкоцентру.

Кров у всіх жінок для вивчення показників лактатдегідрогенази, про- та антиоксидантних показників забиралася за 30 хвилин до діагностичного вишкрібання.

Еритроцити отримували із цільної крові, стабілізованої розчином гепарину (25 ОД на 1 мл), шляхом центрифугування її впродовж 30 хв при 3000 об/хв. Двічі їх відмивали охолодженням фізіологічним розчином натрію хлориду, осаджували і гемолізували рівним об'ємом дистильованої води.

В еритроцитах і плазмі крові визначали вміст малонового альдегіду (МА) [8], окиснювально-модифікованих білків [6], відновленого глутатіону [3] та церулоплазміну [1], лактатдегідрогенази, [4], каталази [5,9].

Статистичну обробку проводили методами варіаційної статистики з використанням t - критерію Стьюдента. Різниця вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження

Аналіз показників лактатдегідрогенази, про- та антиоксидантних показників крові в жінок з різними гістологічними варіантами зішкрібів ендометрія при кровотечах в постменопаузі визначив наступні особливості (табл.).

Таблиця
Активність лактатдегідрогенази та про- і антиоксидантні показники крові жінок з кровотечами в постменопаузі (M±m)

№ групи	Показники	ЛДГ, Мккат/л	ОМБ λ_{370} , мкмоль/мл	Малоновий альдегід, мкмоль/мл	Відновлений глутатіон, мкмоль/мл	Каталаза, мкмоль/мл	Церулоплазмін, мГ/д
1	Здорові жінки (контроль) n = 16	4,93±0,43	1,07±0,14	16,07±1,32	0,94±0,08	258,3±18,5	154,2±11,4
2	Умовно нормальний епітелій n = 10	4,72±1,01 p ₁ >0,3	1,50±0,19 p ₁ <0,05	19,13±2,77 p ₁ <0,001	0,91±0,09 p ₁ >0,05	261,4±16,2 p ₁ >0,05	153,3±18,2 p ₁ >0,05
3	Атрофія ендометрія n = 16	6,80±0,42 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,54±0,10 p ₁ <0,01 p ₂ >0,06	20,26±2,94 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	0,89±0,07 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	255,1±25,6 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	152,8±12,3 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
4	Гіперплазія ендометрія n = 12	10,52±0,97 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001	1,60±0,15 p ₁ <0,001 p ₂ >0,001 p ₃ >0,05	23,78±3,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001	0,70±0,08 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05	223,5±21,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ >0,05	195,9±16,5 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
5	Поліп ендометрія n = 13	14,16±1,22 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05	1,59±0,13 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05 p ₄ >0,05	27,82±2,75 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001	0,55±0,06 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05	208,3±19,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001	229,8±15,3 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001
6	Рак ендометрія n = 13	18,26±1,49 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05 p ₅ <0,05	1,38±0,12 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,001 p ₅ <0,05	32,39±2,54 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05 p ₅ <0,001	0,37±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05 p ₅ <0,001	182,8±11,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05 p ₅ <0,01	248,6±16,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 p ₄ <0,05 p ₅ <0,001

Примітка. p₁ - у порівнянні з контролем; p₂ - у порівнянні з другою групою; p₃ - у порівнянні з третьою групою; p₄ - у порівнянні з четвертою групою; p₅ - у порівнянні з п'ятою групою

Злоякісні пухлини мають властивість інтенсивно засвоювати глюкозу з кров'ю. Чим більше агресивний ріст пухлин, тим більше її клітин переходять від аеробного до анаеробного шляху гліколізу [9]. Аеробна фаза розчинення глюкози закінчується утворенням молочної кислоти. За аеробних умов у крові молочна кислота перетворюється за участю лактатдегідрогенази до пірвіноградної кислоти.

Активність лактатдегідрогенази у нашому дослідженні поступово вірогідно зростає з $6,80 \pm 0,42$ Мккат/л у жінок з атрофією ендометрія до $14,16 \pm 1,22$ з поліпами ендометрія. Найбільшого значення - $18,26 \pm 1,49$ рівень цього ферменту був при кровотечах в постменопаузі у жінок з раком ендометрія.

Цікаві дані В.С. Шапота, про наявність в мембрані ракових клітин усіх ферментів гліколізу, що дозволяє їм засвоювати глюкозу з навколишнього середовища навіть при низькій її концентрації, та успішно конкурувати за неї з нормальними клітинами, в мембранах яких ферменти гліколізу не виявлені [9].

У пухлинні підтримується низький рівень глюкози. Звідси, виникає великий перепад вмісту глюкози між судинами, що живлять пухлину та тканиною самої пухлини - 0,8 проти нуля. Внаслідок такого градієнта глюкоза безперервно втягується немов би "в вакуум".

В еритроцитах крові рівень відновленого глутатіону у хворих на атрофію, гіперплазію, поліпи ендометрія зменшувався в міру малігнізації пухлини на 22,1, 36,1 і 52,6% відповідно в порівнянні з контрольною групою. Відновлений глутатіон - основний компонент глутатіонової антиоксидантної системи [7]. За даними літератури [3,9], його вміст у тканинах злоякісних новоутворень різко підвищений. Значний ріст у них спостерігається і активності ферментів, які використовують відновлений глутатіон, як кофактор для глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази. Пониження рівня відновленого глутатіону в еритроцитах можна розглядати як посилення його використання в міру малігнізації пухлини [7].

Вміст у плазмі крові церулоплазміну був підвищеним у жінок з гіперплазією ендометрія (на 23,6%), далі підвищувався у хворих на поліпи та рак ендометрія на 24,9 і 32,4% відповідно в порівнянні з контролем. Церулоплазмін - основний антиоксидант плазми крові. Циркулюючи в крові, він знешкоджує метаболіти пероксидного окиснення ліпідів та гальмує утворення гідроксильного радикала. Остання функція церулоплазміну відома як феросидазна і пов'язана окисненням Fe^{2+} у Fe^{3+} , що в кінцевому рахунку призводить до пригнічення

утворення гідроксильного радикала в реакції Фентона [1].

Значної уваги заслуговують властивості церулоплазміну як білка гострої фази. Показано, що рівень церулоплазміну значно зростає при різноманітних онкологічних захворюваннях. Він виступає, як ендогенний модулятор запалення за рахунок інактивації активних форм кисню, які продукуються фагоцитувальними лейкоцитами, кількість яких при ризику яєчників різко підвищена [1].

Ріст продукції активних форм кисню за умов канцерогенезу призводить до посилення ліпопероксидації і підвищеного утворення одного із кінцевих метаболітів розпаду поліснєвих кислот - малонового альдегіду. За нашими даними вміст малонового альдегіду в еритроцитах крові хворих на атрофію, гіперплазію та поліп ендометрія підвищений у межах 20-22% у порівнянні зі здоровими жінками. Значний ріст малонового альдегіду (на 32,4%) спостерігався при захворюванні на рак ендометрія.

Як відомо [4,5], в основі пошкоджувальної дії вільнорадикальних продуктів ліпопероксидації лежить їх властивість ковалентно модифікувати біополімери, у першу чергу, білки. Згідно з отриманими результатами ступінь окисно-модифікованих білків плазми крові нейтрального (E_{370}) характеру не зазнає змін при атрофії ендометрія ($P > 0,05$). Водночас при поліпах і особливо при раку ендометрія, цей показник вірогідно підвищується (на 28,0 і 42,4% відповідно для альдегідо- та кетонпохідних нейтрального характеру) порівняно із здоровими жінками.

На відміну від пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) окислювальна модифікація білків (ОМБ) при окиснювальному стресі (порушення рівноваги між анти- і прооксидантною системами в бік переважання генерації активних форм кисню (АФК)), має специфічний характер. При вільнорадикальній патології перш за все відбувається окиснення ліпідів, інтенсивність якого залежить від стану антиоксидантного захисту тканин. Білки окиснюються на другому етапі й у цей процес залучаються не лише АФК, але й інші радикальні продукти, зокрема органічні радикали ПОЛ [6]. На глибоких стадіях окиснювального стресу, коли спостерігається виснаження антиоксидантного захисту тканин, у нашому випадку при раку яєчників у жінок, мають місце більш виражені окиснювальні руйнування білків. Внаслідок особливостей хімічної будови білків, їх функціональної активності, яку вони проявляють у різних тканинах, їх окиснювальна деструкція може бути однією з патогенетичних ланок онкологічних захворювань на тлі окиснювального стресу.

Визначення рівня активності каталази в еритроцитах жінок з кровотечами в постменопаузі показано, що навіть при доброякісних процесах ендометрія є вірогідні значення активності ферменту з $255 \pm 25,6$ (при атрофії) до $208,3 \pm 19,6$ мкмоль/хв мл. (при поліпах ендометрія). Рак ендометрія ще більшою мірою викликає пригнічення активності каталази до $182,8 \pm 11,7$ мкмоль/хв мл ($p < 0,001$).

Отримані результати можуть свідчити про те, що злаякісні пухлини ендометрія викликають значні зміни в оксидантно - антиоксидантному етапі організму жінок з кровотечами в постменопаузі. Зниження активності каталази призводить до накопичення в тканинах перекису водню. Останній при одноелектронному відновленні генерує гідроксильний радикал, який включає активність перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран та окисну модифікацію білків, що в кінцевому рахунку призводить до загибелі клітин [5].

Підсумовуючи вищенаведене, лактатдегідрогеназа, рівень про- та антиоксидантних показників крові у жінок є чутливим тестом стану перебігу малігізації пухлин ендометрія.

Висновки

1. Вміст у крові окисно-модифікованих білків, відновленого глутатіону, каталази різко знижується, а лактатдегідрогенази, малонового альдегіду, церулоплазмину значно вищі при малігізації ендометрія у жінок в менопаузі.

2. Визначення вмісту лактатдегідрогенази та про- та антиоксидантних показників крові рекомендується як додатковий тест диференційної діагностики патологічних процесів ендометрія в комплексному обстеженні хворих з кровотечами в постменопаузі.

Перспективи подальших досліджень

Отримані дані є основою для подальшого точного визначення параметрів концентрації ферментів про-та антиоксидантної системи та лактатдегідрогенази по кожному патологічному гістологічному стану ендометрія у жінок в постменопаузі, що можливо при більшій кількості досліджень.

Література. 1. Берднських Н. К., Курциужк В. Церулоплазмін: Функції в організмі, фармакологічні властивості та використання в клінічній практиці. - Київ: Просвіта, 2001. - 46с. 2. Бахман Я.В. Руководство по онкогинекологии. - С.-Пб.: ООО "Фоллиант", 2002. - 542 с. 3. Гороженская Э. Г., Дарионова В. Б., Зубрыхина Г. П. Содержание глутатиона и активность глутатион - S - трансферазы как фактор прогноза эффективности лекарственной терапии больших раком яичников. // Рос. онкол. ж. - 2002. - № 5. - С.29-30.

4. Койб В.Г., Камышиников В.С. Справочник по клинической химии. - Минск: Беларусь. - 1982. - С.311. 5. Мецишен І. Ф., Пішак В.П., Григор'єва Н.П. Основи обміну речовин та енергії: Навчальний посібник. - Чернівці: Медиіверситет, 2005.-192с. 6. Мецишен І. Ф., Польовий В.П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісник - 1990. - Т.3, №1. С.196-205. 7. Мецишен І. Ф., Петрова Н.В. Окисление и восстановление глутатиона в органах крысы при введении этония // Укр. биохим. ж. - 1983. - Т.55. - С.571-573. 8. Стальная И. Д., Гаршивили Г. Г. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С 66-68. 9. Шанот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. - М.: Медицина, 1975.-165с. 10. de Kroon C.D., van Dongen H., Jansen F.W. Gynaecological diagnosis of postmenopausal women with abnormal vaginal bleeding: a comparison with the guideline // Ned Tijdschr Geneesk. - 2006. - Vol.150, N10. - P.586-587. 11. Harada T. Postmenopausal genital bleeding // Ippon Rinsho. - 2006. - Vol.28, N2. - P.462-464. 12. Youssef A., Ben Assia N., Ciara M.F. Postmenopausal uterine bleeding. Analytic study about 65 cases//Tunis.Med.-2005. - Vol.83, N8. - P.453-456.

АКТИВНОСТЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ, ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЖЕНЩИН С КРОВОТЕЧЕНИЯМИ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Ben Messaoud Erchid, O.P.Peresun'ko

Резюме. Изучены диагностические возможности активности лактатдегидрогеназы про- и антиоксидантные показатели крови женщин с атрофией, полипами эндометрия и раком тела матки при кровотечениях в постменопаузе. Показано, что содержание в крови окислено-модифицированных белков, восстановленного глутатиона, активности каталазы резко сниженный, а уровень малонового альдегида, церулоплазмину и активности лактатдегидрогеназы значительно выше при малигнизации. Определение в крови больных этих показателей может стать перспективным направлением дифференциальной диагностики причин кровотечения у женщин в постменопаузе.

Ключевые слова: кровотечение в постменопаузе, лактатдегидрогеназа, про- и антиоксидантные показатели, кровь.

THE ACTIVITY OF LACTATE DEHYDROGENASE AND PRO- AND ANTIOXIDANT INDICES OF WOMEN'S BLOOD WITH POSTMENOPAUSAL HEMORRHAGES

Ben Messaoud Erchid, O.P.Peresun'ko

Abstract. The diagnostic potentialities of the lactate dehydrogenase parameters pro- and blood antioxidant indices of women with atrophy, hyperplasia, polyps of the endometrium and cancer of the uterine body in case of postmenopausal hemorrhages have been studied. It has been shown that the blood content of oxidative-modified proteins, reduced glutathione, catalase is sharply diminished, whereas that of lactate dehydrogenase, malonic aldehyde, ceruloplasmin is considerably higher in case of malignization. The determination of the parameters in the patients' plasma may become a promising trend in the differential diagnostics of postmenopausal hemorrhages in women.

Key words: postmenopausal hemorrhage, lactate dehydrogenase, pro- and antioxidant indices.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2008. - Vol 7. №1. - P.62-65.

Надійшла до редакції 21.01.2008

Рецензент - проф. І.Ф. Мецишен