ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. XXXIX, 2 SECTIO D 1984

Klinika Otolaryngologiczna. Instytut Chirurgii. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Bolesław Semczuk

Wiesław GOŁĄBEK

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w surowicy chorych z polipem, brodawczakami i rakiem krtani

Активность лактатдегидрогеназы сыворотки крови при полипе, папилломе и раке гортани

Serum Lactate Dehydrogenase in Patients with Laryngeal Polyp, Papilloma and Cancer

Według szeregu autorów oznaczanie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy krwi, a zwłaszcza jej izoenzymów, może mieć wartość w diagnostyce chorób nowotworowych (7, 12, 13, 19). Aktywność LDH w surowicy krwi uważana jest przez tych autorów za jeden z nieswoistych biochemicznych wskaźników choroby nowotworowej.

Celem badań było:

1. Określenie całkowitej aktywności LDH i jej izoenzymów w surowicy krwi chorych na raka krtani i porównanie z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej oraz u chorych z polipem i brodawczakami krtani.
2. Ocena aktywności LDH w surowicy w zależności od stadium klinicznego zaawansowania choroby.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono w grupie 97 mężczyzn chorych na raka krtani w wieku 32—78 lat, średni wiek 56 lat; w grupie 14 chorych z brodawczakami krtani, w tym 6 mężczyzn i 8 kobiet w wieku 17—60 lat, średni wiek 34 lata i w grupie 14 mężczyzn z typowym polipem krtani w wieku 26—59 lat, średni wiek 39 lat. Grupę kontrolną stanowiło 20 mężczyzn z niedosłuchem odbiorczym w wieku 20—59 lat, średni wiek 43 lata, przyjętych do szpitala w celu ustalenia rozpoznania. Łącznie objęto badaniem 145 chorych.

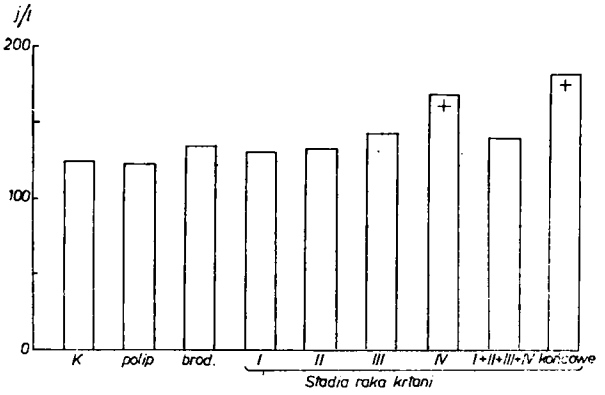
Wszystkim chorym wykonano badanie laryngologiczne i internistyczne, EKG, badanie radiologiczne klatki piersiowej i zatok przynosowych, podstawowe badania laboratoryjne, w tym czynności wątroby i nerek. U żadnego z badanych nie stwierdzono innych chorób, w których mogą występować zmiany aktywności LDH w surowicy krwi, z wyjątkiem 10 chorych na raka krtani w końcowym okresie choroby (kilka tygodni przed zgonem). Rozpoznanie u wszystkich chorych ze zmianami w krtani zostało ustalone badaniem histopatologicznym. We wszystkich przypadkach raka krtani stwierdzono raka płaskonabłonkowego, u większości chorych został określony stopień złośliwości histologicznej raka według klasyfikacji WHO z r. 1971 (17). Stopień klinicznego zaawansowania raka określano według klasyfikacji UICC z r. 1962 (1).

Całkowitą aktywność LDH w surowicy określano metodą spektrofotometryczną kinetyczną według Kinga (11), wykorzystując warunki reakcji podane przez Gaya i wsp. (5) i wyrażano w jednostkach międzynarodowych na 1 l. Spadek gęstości optycznej rejestrowano na spektrofotometrze LKB 8600 i Specord UV VIS. Izoenzymy LDH rozdzielano elektroforetycznie na błonach octanu celulozy i barwiono według Barnetta (2). Po elucji poszczególnych frakcji oznaczano je spektrofotometrycznie (Unicam SP-500) i wyrażano w odsetkach aktywności całkowitej. Dla oceny profilu izoenzymów obliczano stosunek izoenzymów katodowych do anodowych, tj. LDH 4+5/1+2. W ocenie wielkości zmian aktywności LDH porównano średnie arytmetyczne badanych grup chorych za pomocą odpowiednich form testu *t* Studenta, a częstość występowania zmian w poszczególnych grupach oceniano za pomocą testu χ^2.

WYNIKI BADAŃ

Średnia aktywność całkowita LDH w surowicy grupy kontrolnej wynosiła 124 ±34 j/l i nie różniła się istotnie od wartości w surowicy chorych z polipem (122 j/l), brodawczakami (134 j/l) i rakiem krtani we wszystkich stadiach klinicznego zaawansowania łącznie (141 j/l). Po wyodrębnieniu grup chorych w kolejnych stadiach zaawansowania raka krtani stwierdzono, że aktywność enzymu w surowicy chorych w stadiach I, II i III nie różniła się od aktywności w krupie kontrolnej, natomiast istotny wzrost aktywności LDH obserwowano w surowicy chorych w stadium IV (166 ±44 j/l; $p<0{,}001$) i w okresie końcowym choroby (187 ±47 j/l; $p<0{,}001$ — ryc. 1).

Aktywność poszczególnych izoenzymów LDH w surowicy osób grupy kontrolnej wynosiła: LDH-1=26,0%, 2=32,5%, 3=23,1%, 4=10,1%, 5==8,3% aktywności całkowitej, a stosunek frakcji 4+5/1+2=0,33. Stosunek izoenzymów katodowych do anodowych w surowicy chorych z polipem, brodawczakami oraz rakiem krtani w stadium I zaawansowania i w stadium końcowym nie różnił się od odpowiedniej wartości w grupie kontrolnej (tab. 1). Natomiast istotny wzrost stosunku izoenzymów LDH 4+5/1+2 stwierdzono w surowicy chorych na raka krtani w stadiach II, III, IV i w surowicy wszystkich sklasyfikowanych chorych na raka

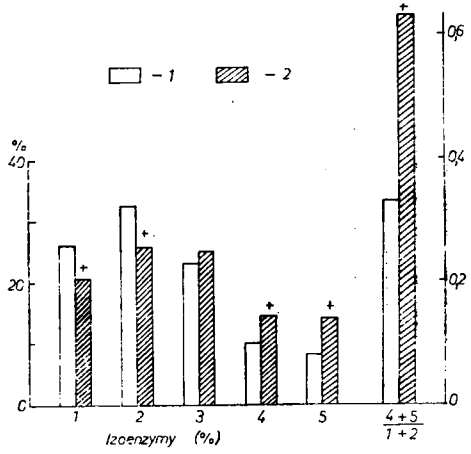


Ryc. 1. Całkowita aktywność LDH w surowicy osób grupy kontrolnej (K), chorych z polipem, brodawczakami i rakiem krtani w kolejnych stadiach zaawansowania klinicznego; znak + oznacza istotną różnicę w porównaniu z grupą kontrolną
Serum total LDH activity in controls (K), in patients with laryngeal polyp, papilloma and cancer (stages of clinical advancement); sign + means a significant difference in comparison with controls

Tab. 1. Stosunek aktywności izoenzymów LDH 4+5/1+2 w surowicy krwi badanych grup chorych
The ratio of serum LDH isoenzymes 4+5/1+2 in the patients of groups examined

Grupy chorych	Liczebność n	Średnia ± odchylenie standardowe x ±SD	Różnica z grupą kontrolną p	Wartości przekraczające x ±2SD grupy kontrolnej	
				n	%
Kontrolna	20	0,33±0,13	-	-	-
Polip	14	0,36±0,12	<0,5	1	7,1
Brodawczaki	14	0,39±0,16	<0,3	2	14,2
Stadia raka:					
I	14	0,37±0,15	<0,5	1	7,1
II	41	0,43±0,14	<0,01	9	21,9
III	14	0,55±0,17	<0,001	5	35,7
IV	18	0,63±0,14	<0,001	11	61,1
I - IV	87	0,48±0,17	<0,001	26	29,9
końcowe	10	0,35±0,15	<0,8	1	10,0

krtani łącznie. Jednak u chorych w stadium IV stosunek frakcji był istotnie wyższy niż w stadiach I i II ($p<0,001$). Stwierdzony wzrost stosunku frakcji katodowych do anodowych określono jako katodowe przesunięcie profilu izoenzymów LDH. Na ryc. 2 przedstawiono aktywność 5 izoenzymów LDH, wyrażoną w odsetkach aktywności całkowitej, oraz stosunek izoenzymów katodowych do anodowych w surowicy grupy kon-



Ryc. 2. Aktywność izoenzymów LDH (%) oraz stosunek frakcji 4+5/1+2 w surowicy 1 — grupy kontrolnej, 2 — chorych na raka krtani w stadium IV; znak + oznacza różnicę istotną

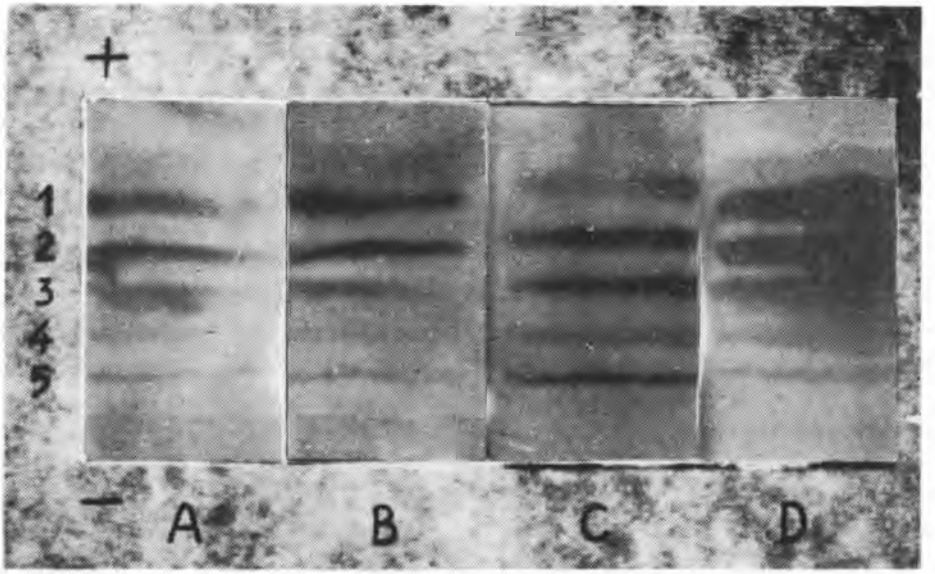
LDH isoenzyme activity (%) and isoenzyme 4+5/1+2 ratio in serum 1 — of controls, 2 — in larynx cancer patients, stage IV; sign + means a significant difference

trolnej i chorych na raka krtani w stadium IV. Aktywność izoenzymów anodowych (1+2) w raku była istotnie niższa, a frakcji katodowych (4+5) istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Różnicę pomiędzy obiema grupami jeszcze wyraźniej oddaje porównanie stosunku frakcji katodowych do anodowych. Przykłady rozdziału elektroforetycznego izoenzymów LDH w surowicy badanych chorych przedstawiono na ryc. 3. Częstość występowania podwyższonego stosunku izoenzymów 4+5/1+2 w surowicy (przekraczającego średnią grupy kontrolnej +2 odchylenia standardowe) wzrasta wraz ze wzrostem stopnia klinicznego zaawansowania raka. Zależność ta jest statystycznie istotna ($\chi^2=13{,}2$; $p<0{,}01$ — tab. 1).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że aktywność LDH w surowicy chorych z polipami i brodawczakami krtani nie różniła się od wartości w grupie kontrolnej, które odpowiadały wartościom prawidłowym, podawanym w piśmiennictwie (14, 16, 19). Całkowita aktywność LDH w surowicy chorych na raka krtani była podwyższona jedynie w stadium IV zaawansowania klinicznego i w okresie końcowym choroby. Natomiast katodowe przesunięcie profilu izoenzymów LDH stwierdzono u chorych w stadiach II, III i IV, przy czym zarówno wielkość, jak i częstość występowania tego przesunięcia wzrastała wraz z zaawansowaniem choroby. Oceniając wszystkich chorych na raka krtani w stadiach I—IV łącznie, wzrost całkowitej aktywności enzymu stwierdzono u 13% chorych, a przesunięcie profilu izoenzymów u 30%. Odpowiednie liczby u chorych w stadium IV wynosiły 28 i 61%.

Wzrost całkowitej aktywności LDH stwierdzono w surowicy chorych



Ryc. 3. Przykłady rozdziału elektroforetycznego izoenzymów LDH w surowicy osoby z grupy kontrolnej (A), chorego z brodawczakami krtani (B) oraz chorych z rakiem krtani w stadium III (C) i w końcowym okresie choroby (D)
Electrophoretic separation of LDH isoenzymes in serum of a control (A), a patient with laryngeal papilloma (B), a patient with larynx cancer stage III (C) and in terminal stage (D)

na nowotwory złośliwe innych narządów (4, 8, 12—14, 19, 20). Hill i Levi (9) pierwsi zaobserwowali wzrost aktywności LDH u 96% chorych na raka różnych narządów. W późniejszych doniesieniach odsetek ten był jednak wyraźnie mniejszy i sięgał od 25% w rakach jelita grubego do 70% w nowotworach wątroby (3, 19). Bodansky (3) stwierdził podwyższoną aktywność LDH u 21% chorych z rakami w obrębie głowy i szyi.

Profil izoenzymów LDH w surowicy zachowuje się w chorobach nowotworowych różnie. Większość autorów podaje katodowe przesunięcie izoenzymogramu, podobne jak w tkankach nowotworowych (4, 16, 19). Rzadziej obserwowano wzrost frakcji pośrednich (20), w białaczkach i niektórych nowotworach gruczołów płciowych stwierdzono anodowe przesunięcie izoenzymogramu LDH (8, 22).

Zmiany aktywności LDH w surowicy występowały w raku krtani rzadziej niż w rakach narządów klatki piersiowej i jamy brzusznej, cytowanych wyżej. Może być to wynikiem wcześniejszego rozpoznawania i mniejszej masy guza w raku krtani, 62% tych chorych znajdowało się w stadiach I i II zaawansowania. Na uwagę zasługuje także wykazanie w okresie końcowym raka krtani znacznie podwyższonej aktywności LDH w surowicy bez zmian profilu izoenzymów. Wydaje się, że przyczyną tego jest uszkodzenie różnych narządów w końcowym okresie choroby nowotworowej, powodujące w miarę równomierne uwalnianie do surowicy wszystkich izoenzymów LDH. Podobne zachowanie LDH stwierdzono w raku płuc (16).

Przyczyną wzrostu aktywności LDH w surowicy krwi chorych na nowotwory złośliwe może być wzmożona produkcja enzymu w komórkach nowotworu i zwiększone jego uwalnianie do krwi, a także uwalnianie LDH z uszkodzonych tkanek z okolicy guza i z tkanek odległych w wyniku zwiększenia przepuszczalności błon komórkowych (10, 15). Za przechodzeniem LDH z guza do surowicy przemawiają podobne zmiany izoenzymogramu, zarówno w surowicy, jak i w tkance nowotworu (6), a także badania wykonane na nowotworach doświadczalnych u zwierząt (21).

Wyciągając wnioski z oznaczeń aktywności LDH w surowicy należy pamiętać, że enzym ten występuje powszechnie w ustroju i ma szeroki zakres wartości prawidłowych w surowicy, a więc zwiększone jego uwalnianie do krwi może być wynikiem uszkodzenia różnych tkanek w wielu chorobach. Pewne cechy swoistości narządowej wykazuje profil izoenzymów LDH, dlatego określanie izoenzymogramu ma większą wartość niż oznaczanie samej aktywności całkowitej enzymu, co również potwierdzają badania własne.

Z przeprowadzonych badań wynika, że oznaczanie w surowicy całkowitej aktywności LDH ma ograniczoną wartość diagnostyczną w raku krtani, gdyż jej wzrost występuje dopiero w stadiach zaawansowanych.

Podobne spostrzeżenia poczyniono w rakach innych narządów (4, 14, 16, 19). Natomiast wyraźne katodowe przesunięcie profilu izoenzymów LDH, po wykluczeniu chorób wątroby i mięśni szkieletowych, może wskazywać na obecność nowotworu złośliwego w ustroju. Pojawiają się doniesienia o zastosowaniu komputerowej analizy oznaczeń LDH i innych badań biochemicznych w diagnostyce nowotworów (18). Jest prawdopodobne, że badania te umożliwią wybranie kilku wskaźników, które w łącznej ocenie będą mieć istotną wartość praktyczną w onkologii klinicznej.

Wnioski

1. Aktywność LDH w surowicy chorych z polipem i brodawczakami krtani nie różni się od wartości prawidłowych.

2. W surowicy chorych na raka krtani całkowita aktywność LDH jest podwyższona jedynie w stadium IV zaawansowania klinicznego, natomiast w stadiach II, III i IV występuje katodowe przesunięcie profilu izoenzymów, które zwiększa się wraz z zaawansowaniem choroby.

PIŚMIENNICTWO

1. American Joint Committee on Cancer Staging and End Results Reporting. Clinical Staging System for Cancer of the Larynx. Chicago 1962.
2. Barnett H.: The Staining of Lactic Dehydrogenase Isoenzymes after Electrophoretic Separation on Cellulose Acetate. J. Clin. Pathol. **17**, 567, 1962.
3. Bodansky O.: Biochemical Tests for Cancer. Ca (N. Y.) **23**, 275, 1973.
4. Garkawyj M. I i wsp.: Izofiermientnyj spiektr łaktatdiegidrogienazy syworotki krowi bol'nych złokaczestwiennymi opucholinami. Wopr. Onkoł. **24/1**, 34, 1978.
5. Gay R. J. i wsp.: Optimum Reaction Conditions for Human Lactate Dehydrogenase Isoenzymes as They Affect Total Lactate Dehydrogenase Activity. Clin. Chem. **14**, 740, 1968.
6. Gołąbek W.: Aktywność dehydrogenazy mleczanowej w tkance raka krtani. Otolaryng. Pol. **37**, 42, 1983, supl.
7. Hankiewicz J., Brudnik B.: Diagnostyka biochemiczna w chorobach nowotworowych. Wiad. Lek. **30**, 455, 1977.
8. Henderson A. R. i wsp.: Increased Synthesis of Lactate Dehydrogenase H Subunit by a Malignant Tumour. Clin. Chem. **20**, 1466, 1974.
9. Hill B. R., Levi C.: Elevation of Serum Component in Neoplastic Disease. Cancer Res. **14**, 513, 1954.
10. Kampschmidt R. F. i wsp.: Plasma Enzymes in Tumor Bearing Rats. Cancer Res. **26**, 237, 1966.
11. King J.: Practical Clinical Enzymology. Van Nostrand Comp. London 1965.
12. Kolaric K. i wsp.: Comparative Investigations of Some Enzymatic Parameters and Liver Scanning in the Early Detection of the Malignant Liver Process. Clin. Chim. Acta **60**, 109, 1975.

13. Levi A. i wsp.: Studies on Muramidase in Hematologic Disorders. I. Serum Muramidase and Lactic Dehydrogenase in Leukemia. Cancer **31**, 939, 1973.
14. Maity C. R., Burma D.: Metabolic Changes in Breast Carcinoma. II. Phosphohexose Isomerase and Lactic Dehydrogenase Levels in Serum. Ind. J. Cancer **10**, 356, 1973.
15. Rowson K. E., Mahy B.: Lactic Dehydrogenase Virus. Springer Verlag, Wien 1975.
16. Starkweather W. H. i wsp.: Alternations of Serum Lactate Dehydrogenase Isoenzymes during Therapy Directed at Lung Cancer. J. Lab. Clin. Med. **68**, 314, 1966.
17. Wahi P. N. i wsp.: Histological Typing of Oral and Oropharyngeal Tumours. International Histological Classification of Tumours. WHO, Geneva 1971.
18. Weber H.: Enzymdiagnose bei malignen Erkrankungen. [w:] Streiflichter aus der Enzymologie. CIBA-GEIGY. Basel 1974.
19. Wood D. C. i wsp.: Serum Lactic Dehydrogenase and Isoenzyme Changes in Clinical Cancer. J. Surg. Oncol. **5**, 251, 1973.
20. Wright E. J. i wsp.: Clinical Application and Interpretation of the Serum Lactic Dehydrogenase Zymogram. Amer. J. Clin. Pahol. **45**, 737, 1966.
21. Wu R.: Leakage of Enzymes from Ascites Tumor Cells. Cancer Res. **19**, 1217, 1957.
22. Zondag H. A., Klein F.: Clinical Application of Lactic Dehydrogenase Isozymes. Alterations in Malignancy. Ann. N. Y. Acad. Sci. **151**, 578, 1968.

Otrzymano 16 III 1983.

РЕЗЮМЕ

Исследование общей активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и ее изоферментов было произведено в сыворотке крови 97 больных раком гортани, 14 больных полипом и 14 больных папилломом гортани и 20 человек контрольной группы. Повышение общей активности ЛДГ удостоверено только у больных раком гортани IV стадии заболевания и в последнем периоде болезни. Катодный передвиг профиля изоферментов был показан у больных раком гортани II, III и IV стадии. Активность ЛДГ в сыворотке при полипе и папилломе гортани не отличалась от активности контрольной группы.

SUMMARY

Serum total lactate dehydrogenase (LDH) activity and its isoenzyme pattern were studied in 97 patients with larynx cancer, 14 patients with laryngeal polyp, 14 patients with larynx papilloma and 20 persons of control group. An increase in total LDH activity was found only in patients with larynx cancer in stage IV and in terminal stage of the disease whereas in stages II, III and IV a cathodic shift in isoenzyme pattern was observed. Serum LDH of patients with laryngeal polyp and papilloma did not differ from that of controls.