

Głównymi celami pracy były:

1. ocena stężenia histaminy w surowicy krwi kobiet z rakiem gruczołu piersiowego w porównaniu do kobiet zdrowych,
2. ocena stężenia histaminy w tkankach nowotworowych i okołonowotworowych raka piersi w porównaniu do prawidłowej tkanki gruczołu piersiowego kobiet zdrowych,
3. ocena enzymów związanych z metabolizmem histaminy (dekarboksylaza histydynowa, diaminooksydaza histaminowa) w tkance rakowej i okołorakowej w porównaniu do tkanki prawidłowej gruczołu piersiowego u kobiet zdrowych,
4. ocena zależności między stężeniami histaminy w tkance rakowej i okołorakowej a aktywnością jej enzymów, biorących udział w metabolizmie histaminy w tych tkankach.

Materiał i metody. Badanie obejmowało 155 kobiet w wieku od 38 do 70 lat, podzielonych na 2 grupy: kontrolną i badaną. Grupa I (kontrolna) obejmowała 60 kobiet (średnia wieku: 50,6±6,3 lat), u której były wykonywane operacje plastyczne piersi. Grupa II (badana) składała się z 95 kobiet (średnia wieku: 51,9±1,7 lat) z rozpoznaniem raka przewodowego gruczołu piersiowego. W obu grupach oznaczono stężenie histaminy w surowicy. W grupie kontrolnej pobierano zdrową tkankę do badania histaminy i jej enzymów. W grupie badanej pobierano do badania histaminy tkankę nowotworową i okołonowotworową.

Wnioski:

1. znamieny wzrost stężenia histaminy w tkankach raków przewodowych sutka spowodowany jest wzrostem syntezy i upośledzonym rozkładem,
2. wykładnikami zaburzonego metabolizmu histaminy w tkankach raków przewodowych sutka jest znamieny wzrost aktywności dekarboksylazy histydynowej i obniżenie aktywności diaminooksydazy,

Stężenie histaminy w osoczu i tkankach pierwotnych raków przewodowych gruczołu piersiowego

The concentration of histamine in plasma and tissues of the primary ductal breast cancers

Stanisław Stanosz¹, Krzysztof Sieja¹, Jarosław von Mach-Szczypiński¹, Sławomir Olewniczak², Małgorzata Stanosz¹

¹Pracownia Menopauzy i Andropauzy, Pomorska Akademia w Szczecinie

²Katedra i Zakład Patomorfologii, Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie

WSTĘP

Histamina (HA) jest szeroko rozpowszechniona w świecie roślinnym i zwierzęcym [1]. Prawie wszystkie tkanki zawierają histaminę, a jej stężenia są szczególnie duże w skórze, błonie śluzowej żołądka i jelit oraz w płucach. Wszystkie tkanki są zdolne syntetyzować histaminę z L-histydyny przy udziale specyficznej dekarboksylazy histydynowej, a niekiedy pod wpływem niespecyficznej dekarboksylazy aromatycznych L-aminokwasów. Inaktywacja histaminy w ustroju odbywa się dwoma drogami poprzez metylację z udziałem N-metylotransferazy (HMT) i dezaminację oksydacyjną katalizowaną przez oksydazę diaminową histaminy. U człowieka histamina jest rozkładana głównie przez metylację z następową oksydacją [1]. Histamina bierze udział w licznych funkcjach ustroju, zarówno w procesach fizjologicznych, jak i w stanach patologicznych [2–4].

Badania Maślińskiego i wsp. [5] potwierdzają, że histamina jest ważnym mediatorem reakcji immunologicznych zachodzących w gruczołach sutkowych i rozwoju zmian

włóknisto-torbielowatych gruczołu sutkowego [2]. Dalsze badania sugerują znaczną rolę histaminy w rozwoju zmian nowotworowych ustroju [3, 4]. Skąpa liczba doniesień i niejednoznaczne wyniki związane z wpływem histaminy na rozwój zmian nowotworowych w gruczołach sutkowych stały się inspiracją do oceny zawartości histaminy w tkance raków przewodowych sutka i aktywności dekarboksylazy histydynowej i diaminooksydazy histaminy w tkance raków przewodowych i w tkance okołorakowej sutka.

Celem pracy jest ocena zależności między stężeniami histaminy w osoczu i tkankach pierwotnych raków przewodowych gruczołów piersiowych oraz tkance okołorakowej sutka a aktywnością dekarboksylazy histydynowej i diaminooksydazy, enzymów biorących udział w metabolizmie histaminy.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 155 kobiet w wieku 38–70 lat, podzielonych na 2 grupy. Nie stwierdzono różnic w rozrodności między grupami

3. wyższe stężenie histaminy w osoczu u kobiet z rakiem przewodowym sutka może być spowodowany zwiększonym uwalnianiem histaminy z tkanek do krążenia.

Słowa kluczowe: rak przewodowy gruczołu piersiowego histamina, dekarboksylaza histydyny, diaminooksydaza histaminowa.

Tab. 1. Ocena kliniczna i histopatologiczna raków gruczołu piersiowego u kobiet (n=95)

Parametry	Liczba	proc.
1. Wiek/stan menopauzalny*		
<40 lat, okres premenopauzalny	7	4,51
>40 lat, okres premenopauzalny	90	58,06
okres pomenopauzalny	58	37,43
2. Wskaźnik masy ciała*		
BMI <25	61	39,7
BMI >25	94	60,3
3. Wymiary raków piersi:		
T ₁ <2 cm	40	43,1
T ₂ 2–5 cm	45	47,3
T ₃ >5 cm	10	10,5
4. Stopnie histologicznej złośliwości wg Blooma i Richardsona:		
I°	20	21,0
II°	60	63,1
III°	15	15,8
5. Typy histopatologiczne raków piersi:		
<i>Ca ductale</i>	85	89,5
<i>Ca cribriforme</i>	3	3,1
<i>Ca lobulare</i>	7	7,4
6. Obecność receptorów estrogenowych:		
pozytywne ER (+)	75	78,9
negatywne ER (-)	20	21,1
7. Inwazyjność raków piersi:		
inwazyjny	83	87,4
nieinwazyjny	12	12,6
8. Stan regionalnych węzłów chłonnych:		
N ₀ , bez przerzutów do węzłów chłonnych	24	25,3
N ₃ , przerzuty do węzłów chłonnych	71	74,7
a) 1–3 węzły (+)	39	41,0
b) 4–6 węzłów (+)	20	21,0
c) >6 węzłów (+)	7	7,4
M, przerzuty odległe nadobojczykowe po stronie guza	5	5,3

* Uwaga: parametr 1 i 2 odnoszą się do grupy kontrolnej (n=60) i badanej (n=95).

(średnia liczba porodów w grupie kontrolnej 2,1; a w grupie badanej 1,75). Grupa I kontrolna obejmowała 60 kobiet w wieku 50,6±2,3 lat, u których przeprowadzane były ope-

racje plastyczne gruczołów piersiowych. U kobiet grupy kontrolnej gruczoły piersiowe były bez zmian patologicznych w gruczole sutkowym, potwierdzonych badaniami kliniczny-

The aims of the study were:

- 1) to estimate histamine concentration in serum in women suffering from breast cancer and healthy ones,
- 2) to evaluate histamine concentration in neoplastic and perineoplastic tissues of breast cancers and normal tissues of healthy women,
- 3) to assess enzymes connected with histamine metabolism (histidine decarboxylase, histamine diaminoxidase) in cancerous and pericancerous tissues in comparison to normal tissues of the control group,
- 4) to evaluate the relationships between the concentration of histamine in cancerous and pericancerous tissues, and the activities of the enzymes which are involved in the histamine metabolism.

Material and methods. The study comprised 155 women aged from 38 to 70 divided into two groups: control and study. The first (control) group comprised 60 women (mean age 50.6 ± 6.3) in whom mammoplasties were performed. The second (study) group consisted of 95 women (mean age 51.9 ± 1.7) with mainly invasive ductal breast cancers. In both groups the concentration of histamine in serum was studied. Tissues (cancerous and pericancerous) were taken from women of the control and study groups for biochemical assays of histamine and its enzymes.

Conclusions:

- 1) significant increase of the concentration of histamine in cancerous tissues of ductal breast cancer is caused by the increased synthesis and decreased inactivation of histamine,
- 2) the causes of disturbed histamine metabolism in cancerous tissues of ductal breast cancers include significantly increased histidine decarboxylase and decreased histamine diaminoxidase activity,
- 3) higher concentration of histamine in serum of women with breast cancer than in healthy ones

mi, biofizycznymi (badanie ultrasonograficzne, mammograficzne), które zgłaszały się na plastyczne operacje gruczołów piersiowych, a w badaniach histopatologicznych wycinków usuniętej tkanki nie było zmian patologicznych. Grupę II stanowiło 95 kobiet w wieku $51,9 \pm 1,7$ z rakiem przewodowym inwazyjnym sutka, potwierdzonym badaniem histopatologicznym wycinków pooperacyjnych. Wstępna diagnostyka zmian w sutkach grupy II została przeprowadzona na podstawie badań klinicznych, biofizycznych i cytologicznych materiału uzyskanego drogą punkcji cienkoigłowej zmian nowotworowych (FNB – *fine needle biopsy*). Grupa III obejmowała 95 kobiet w wieku $51,9 \pm 1,7$, u których materiałem do oceny zawartości histaminy była prawidłowa tkanka okołorakowa grupy II kobiet. Następnie wykonano badanie histopatologiczne wycinków usuniętego ogniska rakowego i węzłów chłonnych. Spośród 155 kobiet objętych badaniami 97 (62,57 proc.) było w okresie przedmenopauzalnym, a w okresie pomenopauzalnym 58 (37,43 proc.). Regularne cykle miesięczkowe w grupie I (86,6 proc.), a w grupie II 50 (77 proc.), wskaźnik masy ciała wynosił BMI < 25 u 61 (39,7 proc.) kobiet, natomiast powyżej 25 stwierdzono u 94 (60,3 proc.) kobiet.

Przed zabiegiem operacyjnym pobierano krew z żyły odłokciowej w godzinach rannych, celem oznaczenia histaminy w osoczu krwi. Wycinki zdrowej tkanki (grupa kontrolna) i tkanki raków sutka oraz tkanki okołorakowej (grupa badana) po zamrożeniu w azocie płynnym i zawinięciu w podwójną folię przechowywano w temperaturze -30°C przez 14 dni do dalszych badań, celem oznaczenia stężenia histaminy w powyższych tkankach.

Stężenie histaminy (HA) w osoczu oznaczono metodą immunoenzymatyczną wg Elisa, zestawami firmy Immunotech, natomiast w tkankach gruczołu sutkowego metodą izotopową wg Taylora [6].

Aktywność dekarboksylazy histydynowej (HDC) w wyżej wymienionych tkankach oznaczano metodą izotopową wg Watanaba [7], a oksydazy diaminowej histaminy (DAO) metodą izotopową według Fogel i wsp. [8]. Badania izotopowe zostały przeprowadzone w Zakładzie Amin Biogennych Polskiej Akademii Nauk.

Analizę statystyczną przeprowadzono wg programu Statistica P, a współczynniki korelacji Pearsona [9], przyjmując za znamienność statystyczną $P < 0,05$.

Na przeprowadzenie badań biochemicznych była zgoda Komisji Etyki Lekarskiej Pomorskiej Akademii Medycznej nr BN-001/7 2000.

WYNIKI

Spośród 95 badanych kobiet, rak przewodowy sutka występował w 85 (89,5 proc.), *Ca lobulare* u 7 (7,4 proc.), *Ca cribriforme* u 3 (3,1 proc.). W rakach przewodowych inwazyjność występowała u 83 (87,4 proc.) kobiet, a rak nieinwazyjny w 12 (12,6 proc.) przypadkach. Receptory estrogenowe w rakach przewodowych stwierdzono w 75 (78,19 proc.) przypadkach, a brak receptorów w 20 (21,1 proc.). Wymiary guzów sutka T_1 40 (43,1 proc.), T_2 45 (47,3 proc.), T_3 10 (10,5 proc.). Stopień histologicznej złośliwości raków wg Blooma i Richardsona stwierdzono w I stopniu 20 (21 proc.), w II stopniu 60 (63,1 proc.) w III stopniu 15 (15,8 proc.). Brak przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych stwierdzono w 24 (25,3 proc.), a przerzuty w 71 przypadkach (74,7 proc.).

W porównaniu z wartościami grupy kontrolnej, u kobiet z rakiem sutka wskaźniki masy ciała ($P < 0,05$), stężenia histaminy w osoczu i tkance rakowej ($P < 0,001$) i aktywność dekarboksylazy histydynowej ($P < 0,01$) są znamienne wyższe. Natomiast aktywność diaminooksydazy histaminowej ($P < 0,001$) jest znamienne niższa zarówno w tkance rakowej, jak i okołorakowej gruczołu piersiowego. Zawartość histaminy w tkance okołorakowej sutka była niezamienne wyższa w porównaniu z wartościami

suggests that newly synthesized histamine is being released from the breast cancer tissue into the serum.

Key words: ductal breast cancer, histamine, histidine decarboxylase, histamine diaminoxidase.

Tab. 2. Stężenia histaminy w osoczu, tkance pierwotnych raków przewodowych i tkance okołorakowej oraz aktywność dekarboksylazy histydynowej i oksydazy diaminowej histaminy w gruczole piersiowym u kobiet z rakiem

Grupa	Wiek	Liczba	Masa	BMI	Histamina		Dekarboksylaza	Diamino- oksydaza
					Osocze nmol/l	tkanka nmol/g	histydynowa pmol/min/mg	pmol/min/ /mg
I	50,6 ±2,3	60	60,9 ±5,9	22,3 ±2,7	5,92 ±3,1	6,3 ±9,1	39,3 ±26,9	36,1 ±9,7
Ila	51,9 ±1,7	95	70,8 ±10,4*	27,7 ±3,9*	9,1 ±3,2***	14,2 ±5,1***	54,7 ±17,1**	14,0 ±6,4***
Ilb	51,9 ±1,7	95	69,8 ±7,98	26,4 ±4,1*	8,9 ±3,9*	7,5 ±5,4	34,5 ±24,3	14,4 ±10,9***

p – poziom istotności; tkanka rakowa (Ila)/tkanka okołorakowa (Ilb) vs tkanka zdrowa (I).
* – *p*<0,05; ** – *p*<0,01; *** – *p*<0,001
BMI – wskaźnik masy ciała
I – tkanka prawidłowa sutka,
Ila – tkanka rakowa sutka,
Ilb – tkanka okołorakowa sutka

grupy kontrolnej, natomiast aktywność dekarboksylazy histydynowej nie wykazuje różnic (tab. 2.).

U kobiet z rakiem sutka występuje znamienna ujemna korelacja między zawartością histaminy w tkance rakowej i aktywnością DAO ($R=-0,321$; $P<0,05$) oraz zawartością histaminy w tkance okołorakowej a aktywnością DAO ($R=-0,340$; $P<0,05$). Natomiast nie stwierdzono korelacji między aktywnością dekarboksylazy histydynowej a zawartością histaminy w tkance rakowej ($R = 0,150$; $P >0,23$) i okołorakowej ($R= 0,240$; $P >0,36$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Histamina jest magazynowana w komórkach tucznych, w ziarnistościach wydzielniczych w kompleksie z heparyną i cynkiem [10], a jej zawartość w tkankach poszczególnych narządów jest dość zróżnicowana. Wpływ histaminy na czynność narządów występuje za pośrednictwem receptorów histaminowych, z których wyróżnia się 3 typy. Selektywne inhibitory receptora H_1 , nazywane lekami antyhistaminowymi, inhibitory receptora H_2 hamują wydzielanie kwaśnego soku żołądkowego, natomiast receptory H_3 pełnią funkcje autoreceptorów hamujących uwalnianie histaminy. Histamina działa bezpośrednio poprzez receptory H_2 na prolifera-

cję i wczesną ekspresję odpowiedzi komórkowej za pośrednictwem genu *c-fos*, powodując zwiększenie metabolizmu komórek [11]. Wzrost aktywności receptorów H_2 prowadzi do indukcji protein kinazy C w komórkach, ich przerostu oraz następowych zmian proliferacyjnych gruczolu sutkowego.

Fakt stwierdzenia w obecnych badaniach znamiennej wyższej zawartości histaminy ($P<0,001$) w tkankach raków przewodowych sutka w porównaniu z wartościami kobiet zdrowych, może przemawiać za rolę tej monoaminy w patogenezie nowotworów. Znamienny wzrost zawartości histaminy w tkankach raków przewodowych spowodowany jest wzrostem biosyntezy histaminy z histydyny w wyniku znamiennej większej aktywności dekarboksylazy histydynowej ($P<0,001$) oraz znamienym obniżeniem aktywności DAO ($P<0,001$), która inaktywuje histaminę drogą dezaminacji oksydacyjnej. Wyniki te są zgodne z doniesieniami innych autorów [12], którzy wykazali, że zawartość histaminy w guzach sutka zależy od miejsca pobrania wycinka do badania [13]. Mimo że w tkankach obwodowych dużych guzów zawartość histaminy jest wyższa, nie wykazano korelacji między wymiarami guza a stopniem zróżnicowania i miejsca pobrania

wycinków do badania [14]. Znamienny wzrost stężenia histaminy w tkance raków przewodowych sutka może być spowodowany również znamienym obniżeniem aktywności N-metylotransferazy [15], która inaktywuje histaminę tkankową poprzez metylację [16]. Proliferacyjne działanie histaminy w schorzeniach gruczołu sutkowego pozostaje w interakcji z naskórkowym czynnikiem wzrostowym (EGF), którego synteza pobudzana jest przez histaminę [17]. Zastosowanie inhibitorów receptorów w leczeniu łagodnych schorzeń gruczołu sutkowego, prowadzi do zahamowania procesów proliferacyjnych i rozwoju nowotworów. Wzrost aktywności receptorów histaminowych w komórkach prowadzi do niekontrolowanej proliferacji komórek, wzrostu gęstości tkanek sutka i rozwoju zmian nowotworowych [18].

WNIOSKI

- Znamienny wzrost stężenia histaminy w tkankach raków przewodowych sutka spowodowany jest wzrostem syntezy i upośredzonym rozkładem.
- Wykładnikami zaburzonego metabolizmu histaminy w tkankach raków przewodowych sutka jest znamienny wzrost aktywności dekarboksylazy histydynowej oraz obniżenie aktywności diaminooksydazy.
- Wyższe stężenie histaminy w osoczu u kobiet z rakiem przewodowym sutka może być spowodowane zwiększonym uwalnianiem histaminy z tkanek do krążenia.

PIŚMIENICTWO

1. Maśliński C. *Histamine and its metabolism in mammals*. Part II and I. *Agents Actions* 1975; 5: 89-107 and 183-225.
2. Breckwoldt M. *Endocrinology and therapy of breast diseases*. *Zentralbl Gynäkol* 1990; 112: 1097-9.
3. Whitthead RJ, Taylor DJ, Evanson JM, et al. *Demonstration of histamine H2 receptor on human melanoma cells*. *Biochem Biophys Commun* 1988; 151: 518-23.

Tab. 3. Współczynniki korelacji liniowej między stężeniami histaminy w tkankach raka gruczołu piersiowego a aktywnością dekarboksylazy histydynowej i diaminooksydazy histaminowej w tych tkankach

Grupa	Liczba	Histamina tkankowa	Dekarboksylaza histydynowa	Diaminooksydaza
I	60	R=0,264 P>0,3	R=0,160 P>0,39	R=0,2 P>0,9
Ila	95	R=0,086 P>0,67	R=0,150 P>0,23	R=-0,3 P<0,05*
Ilb	95	R=0,26 P<0,05*	R=0,2 P>0,36	R=-0,3 P<0,05*

R – Współczynnik korelacji liniowej Pearsona; P – poziom istotności; * – P<0,05
I – tkanka prawidłowa sutka,
Ila – tkanka rakowa sutka,
Ilb – tkanka okołorakowa sutka

4. Adams WJ, Lawson JA, Morris DL. *Cimetidine inhibits in vivo growth of human colon cancer and reverses histamine stimulated in vitro and in vivo growth*. *Gut* 1994; 35: 1632-6.
5. Maśliński C, Kierska D. *Histamine in C3H/2 mice carrying spontaneous tumors of the mammary gland*. *Agents Actions* 1991; 33: 192-4.
6. Taylor KM, Snyder SH. *Isotopic microassay of histamine, histidine, histidine decarboxylase and histamine methyltransferase in brain tissue*. *J Neurochem* 1972; 19: 1343-58.
7. Watanaba T. *Increase in histidine decarboxylase activity in mouse skin after application of the tumor promoter tetradecanoylphorbol acetate*. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 100: 427-31.
8. Fogel WA, et al. *A sum of 14C putrescine metabolites as a measure of DAO activity. Column chromatography assay*. *Agents Actions* 1985; 16: 99-101.
9. Stanisław A. *Przystępny kurs statystyki w oparciu o program Statistica PC*. Ed. Stat. Soft, Kraków 1998.
10. Maśliński C, Kierska D, Fogel WA, et al. *Histamine in mammary gland in pregnancy and lactation*. *Comp Biochem Physiol* 1996; 116A: 1-6.
11. Wang LD, Hoeltel M, Rutler K, et al. *Activation of the histamine H2 receptor is linked to cell proliferation and c-fos gene transcription*. *Am J Physiol* 1997; 273: 2037-44.
12. Chanda R, Ganguly AK. *Diaminooksydase activity and tissue histamine content of human skin, breast and rectal carcinoma*. *Cancer Lett* 1987; 34: 207-12.
13. Garcia-Caballero M, Neugebauer E, Rodriguez F, et al. *Histamine synthesis and content in benign and malignant breast tumor. Its effects on other host tissues*. *Surg Oncol* 1994; 3: 167-73.
14. Burtin C, Scheinmann P, Salomon IC, et al. *Increased tissue histamine in tumor-bearing mice and rats*. *Br J Cancer* 1981; 43: 684-8.
15. Stanosz S, Stanosz M, Sankowski Z, et al. *Histamine in the neoplastic tissue of the breast cancer. VI. Congress of European Society for Gynecologic and Obstetric Investigation*. *Madonna di Campiglio* 2002; 444-7.
16. Kikuchi K, Kanedo T, Takehara K. *Effect of various growth factors and histamine on cultured colloid fibroblasts*. *Dermatology* 1995; 190: 4-8.
17. Stanosz S, Sieja K, Wysocki K, et al. *Histamina and epidermal growth factor in women with mild pathological state of mammary gland*. *Practising Gynecology* 2000; 8: 43-5.
18. Davio C, Balolia A, Mladovan A, et al. *Expression of histamine receptors in different cell lines derived from mammary gland and human breast carcinomas*. *Inflamm Res* 1995; 44: Supl 1, S 70-1.

ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. med. **Stanisław Stanosz**
Pracownia Menopauzy i Andropauzy
Pomorska Akademia Medyczna
ul. Unii Lubelskiej 1
71-256 Szczecin
tel. 0 (prefiks) 91 486 13 20
faks: 0 (prefiks) 91 425 33 06
e-mail: stanosz@poczta.onet.pl