

УДК 577.15

С. С. Чернадчук, співроб. каф. біохімії, **І. Л. Вовчук**, канд. біол. наук, докторант каф. біохімії

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.
Тел: (0482) 68-78-75 e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

АКТИВНІСТЬ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ МАТРИКСУ (МППМ-2) У ТКАНИНАХ НОВОУТВОРЕНЬ ЕНДОМЕТРІЯ ТА МІОМЕТРІЯ

Досліджена активність металопротеїнази матриксу (МППМ-2) у тканинах доброякісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія. Встановлено, що у тканинах доброякісних новоутворень активність МППМ-2 змінюється в залежності від проліферуючого потенціалу пухлинних клітин міометрія та ендометрія. Активність МППМ-2 в тканині злоякісної епітеліальної пухлини ендометрія — аденокарциноми — знижується зі ступенем диференціації пухлинних клітин.

Ключові слова: металопротеїнази, ендометрій, міометрій, аденокарцинома, пухлина.

В останні роки протеолітичні ферменти, які відносяться до класу металопротеїназ, розглядаються як інструмент деструктивного, обмеженого протеолізу екстрацелюлярного матриксу, який виконує роль бар'єру для розповсюдження пухлинних клітин.

Металопротеїнази позаклітинного матриксу гідролізують широкий спектр субстратів, що включають колагени, глікопротеїни, протеоглікани та денатуризований колаген (желатин), які входять у склад базальної мембрани.

Участь металопротеїназ матриксу (МППМ) в пухлинній трансформації, а також в процесах інвазії та метастазування добре доведена *in vitro* та *in vivo*. Встановлено, що експресія металопротеїназ матриксу корелює з деструктивними змінами в матриксі та з туморогеним фенотипом клітин, а також залежить від походження пухлини та тканини. Металопротеїнази матриксу можуть приймати участь в процесі канцерогенезу, впливаючи на різноманітні шляхи передачі сигналу в клітині, на основні компоненти міжклітинного матриксу, а також синтезуючи біологічноактивні молекули [1].

Про участь металопротеїназ у метастатичному процесі існують суперечні дані. Так, D. Train et al [2]. встановили залежність між секрецією колагенази типу I (МППМ-1) клітинами пухлини молочної залози мишей та розвитком метастазів у легенях. Існують дані, які вказують про взаємозв'язок між ступенем інвазії ракових клітин тканини сечового міхура людини та активністю колагенази типу I (МППМ-1) в екстрактах пухлини [3]. Проте встановити залежність між

рівнем активності колагеназ та метастатичним потенціалом клітин пухлини вдається не завжди [4]. Тому подальші дослідження залежності метастатичного потенціалу ракових клітин від активності різних протеїназ є актуальними і дуже важливими.

Зв'язок металопротеїнази-2 (желатиназа А, МІМ-2, КФ 3.4.24.24) з інвазією пухлинних клітин представляє значний інтерес, оскільки активність даного ферменту в пухлинних клітинах висока і цей фермент лізує базальну мембрану. Даний фермент виявлено у клітинах меланоми В16, де його активність корелює з метастатичним потенціалом клітин [5]. Встановлено, що металопротеїназа-2 є хемоатрактантом для клітин карциноми Льюїса і фібросаркоми Т-24 [6]. Вона також збільшує міграцію клітин чешуйчастої карциноми SCC-4 в судинну систему.

Мета цієї роботи — дослідити активність металопротеїнази-2 (МІМ-2) в тканинах новоутворень ендометрія та міометрія з урахуванням вікових змін жіночого організму.

Матеріали і методи

Досліджували гомогенати неураженої тканини ендометрія, міометрія та зразки тканин доброякісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія, вилучених операційним шляхом у жінок, які не отримували медикаментозного доопераційного лікування.

Тканини гомогенізували в 0,9 % розчині NaCl (у співвідношенні 1:10) і центрифугували при 12000 обертів / хв при + 4 °С протягом 45 хвилин.

Патоморфологічні діагнози були верифіковані за міжнародною класифікацією ВОЗ із визначенням морфологічного стану і ступеня диференціації трансформованих клітин пухлинної тканини [7].

У супернатанті зразків тканин ендометрія та міометрія визначали активність металопротеїнази-2 по гідролізу субстрату — желатини (рН 7,4) [8] та вміст білка — за методом Lowry [9].

Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 570 нм, відносну активність ферментів виражали в ммольх глі/мг сирої маси тканини за хв. інкубації при 37 °С, питому активність — в ммольх глі/г білка.

Статистичну значимість відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерія Ст'юдента [10].

Результати та їх обговорення

За дослідження активності МІМ-2 в тканинах доброякісних та злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія онтогенетичні властивості цього показника проявилися достатньо чітко (рис. 1).

Так, при дослідженні жінок кожної вікової групи, яка включала 25 осіб, активність ферменту в тканинах ендометрія та міометрія без новоутворень була незначною і практично не змінювалась у жінок із віком. За наявності як доброякісних, так і злоякісних новоутворень ендометрія та міометрія активність МІМ-2 була в середньому в 7,1–

13,3 рази вищою у порівнянні з показниками ендометрія та міометрія без новоутворень. Встановлено, що в межах однієї вікової групи активність ферменту вірогідно вища за наявності доброякісного новоутворення в ендометрії та міометрії, ніж у випадку злоякісного процесу. Максимальна активність ферменту спостерігалася у жінок 51–70 років в зразках тканин з доброякісними новоутвореннями.

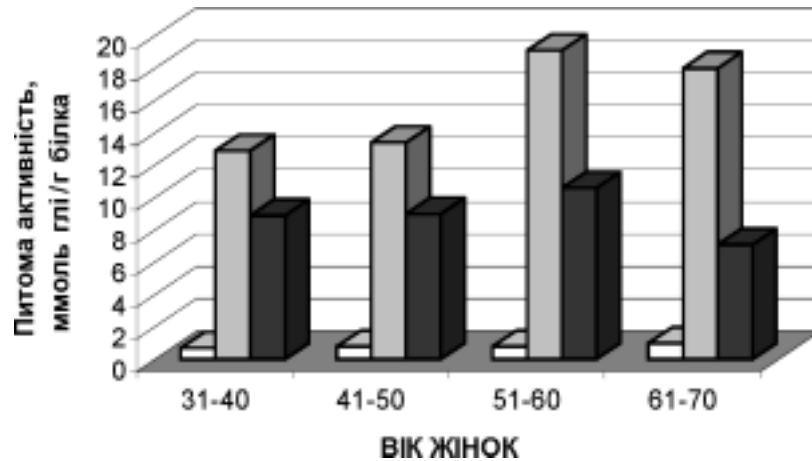


Рис. 1. Питома активність металопротеїнази-2 в тканинах доброякісних та злоякісних новоутворень міометрія та ендометрія жінок різного віку

- — тканини ендометрія та міометрія без новоутворень
- (light gray) — тканини ендометрія та міометрія доброякісних новоутворень
- (black) — тканини ендометрія та міометрія злоякісних новоутворень

Серед найбільш розповсюджених доброякісних патологій міометрія максимальне підвищення активності ферменту (в 16,5 рази, у порівнянні з тканиною міометрія, не ураженого пухлиною) було встановлено в тканині проліферуючої форми фібролейоміоми (табл. 1)

У зразках доброякісних новоутворень ендометрія у порівнянні з тканиною ендометрія без новоутворень встановлено найбільше підвищення активності металопротеїнази-2 (в 25,7 рази) за наявності одночасно гіперпластичних і неопластичних процесів (аденоматоз + залозо-кістозна гіперплазія).

Вивчення активності металопротеїнази-2 в тканинах злоякісних новоутворень ендометрія виявило збільшення активності ферменту (відносно показників тканин ендометрія без новоутворень) в 7,3–10,2 рази і знижувалось зі ступенем диференціації клітин аденокарциноми злоякісної пухлини ендометрія (табл. 2).

Слід відмітити, що на відміну від результатів інших дослідників [11, 12], отримані нами результати демонструють, що металопротеїназа-2 є найбільш показовим критерієм наявності доброякісних новоутворень в тканинах ендометрія. Ці результати співпадають з результатами, отриманими нами раніше щодо активності катепсин В- і D-подібних ферментів, трипсиноподібних ферментів, а також активності

карбоксіпептидаз А і В [13-15], що свідчить про неспецифічну реакцію організму на процес новоутворення в міометрії та ендометрії.

Таблиця 1

Активність металопротеїнази-2 в тканинах неуразеного ендометрія та міометрія та в тканинах доброякісних новоутворень

| Патоморфологічний стан тканин | n | Концентрація білка, г/г | Відносна активність, ммоль гліцину / хв мг тканини | Питома активність, ммоль гліцину / хв г білка |
|---|-----|-------------------------|--|---|
| Міометрій без новоутворень | 102 | 0,064±0,006 | 0,053 ± 0,006 | 0,828±0,077 |
| Доброякісні новоутворення міометрія: | | | | |
| Фібролейоміома + поліп | 23 | 0,040±0,003↓ | 0,484±0,052↑ | 12,100±1,148↑ |
| Фібролейоміома | 42 | 0,043±0,004↓ | 0,527±0,041↑ | 12,255±1,192↑ |
| Фібролейоміома проліферуюча | 31 | 0,039±0,003↓ | 0,534±0,052↑ | 13,692±1,329↑ |
| Ендометрій без новоутворень | 102 | 0,058±0,006 | 0,048±0,022 | 0,827±0,099 |
| Доброякісні новоутворення ендометрія: | | | | |
| Кістозна атрофія | 16 | 0,058±0,006 | 0,600±0,055↑ | 10,344±1,035↑ |
| Залозо -кістозна гіперплазія | 12 | 0,043±0,003↓ | 0,350±0,035↑ | 8,139±0,785↑ |
| Ендометріоз + залозо -кістозна гіперплазія | 11 | 0,056±0,006 | 0,558±0,056↑ | 9,964±1,021↑ |
| Аденоматоз | 15 | 0,038±0,004↓ | 0,667±0,066↑ | 17,552±1,696↑ |
| Аденоматоз + залозо -кістозна гіперплазія | 15 | 0,033±0,002↓ | 0,702±0,067↑ | 21,272±2,104↑ |
| Ендометріоз + аденоматоз + залозо -кістозна гіперплазія | 27 | 0,035±0,003↓ | 0,734±0,081↑ | 20,971±2,112↑ |

Примітка: ↑↓ — вірогідна зміна досліджених показників у трансформованій тканині міометрія та ендометрія у порівнянні з тканинами без новоутворень

Значні відмінності активності металопротеїнази у випадку доброякісних та злоякісних новоутворень в тканинах ендометрія та міометрія у порівнянні з тканинами без пухлин можуть свідчити про ключову роль МІМ-2 в проліферації клітин, а також про відсутність ефективних компенсаторних процесів, здібних демфірувати це явище.

Таблиця 2

Активність металопротеїнази-2 в тканині злоякісного новоутворення ендометрія

| Патоморфологічний стан тканини | n | Концентрація білка, г/г | Відносна активність, ммоль гліцину / хв мг тканини | Питома активність, ммоль гліцину / хв г білка |
|--|-----|-------------------------|--|---|
| Ендометрій без новоутворення | 102 | 0,058±0,006 | 0,048±0,022 | 0,827±0,099 |
| Злоякісні пухлини ендометрія: | | | | |
| Високо-диференційована аденокарцинома | 14 | 0,055±0,004 | 0,434±0,416↑ | 7,890±0,751↑ |
| Помірно-диференційована аденокарцинома | 19 | 0,055±0,004 | 0,467±0,044↑ | 8,490±0,867↑ |
| Низько-диференційована аденокарцинома | 8 | 0,066±0,006 | 0,400±0,039↑ | 6,060±0,585↑ |

Висновки:

1. Активність металопротеїнази-2 значно зростає за наявності доброякісних новоутворень в тканинах ендометрія та міометрія, що пов'язано з проліферуючою активністю пухлинних клітин.

2. Активність металопротеїнази-2 злоякісної епітеліальної пухлини ендометрія — аденокарциноми — знижується зі ступенем диференціації пухлинних клітин.

3. Металопротеїназа-2 є найбільш показовим критерієм наявності доброякісних новоутворень ендометрія та міометрія.

Література

1. Сологуб Л. І., Пашковська І. С., Антоняк Г. Л. Протеази клітин та їх функція — К: Наукова думка. — 1992. — 195 с.
2. Tarin D., Hoyt B., Evans D. Correlation of collagenase secretion with metastatic-colonization potential in naturally occurring murine mammary tumors // Brit. J. Cancer. — 1982. — Vol. 46. — № 1. — P. 266–278.
3. Wirl G., Frick J. Collagenase — a marker enzyme of human bladder cancer // Urol. Res. — 1979. — Vol. 7. — № 1. — P. 103–108.

4. *Liotta L., Rao C., Barsky S.* Tumor invasion and the extracellular matrix // *Lad. Invest.* — 1983. — Vol. 49. — N 3. — P. 636–649.
5. *Tryggvason K., Hoyhtya M., Salo T.* Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion // *Biochem. Biophys. Acta.* — 1987. — Vol. 907. — № 1. — P. 191–217.
6. *Terranova V., Maslow D., Markas L.* Directed migration of murine and human tumor cells to collagenases and other proteases // *Cancer Res.* — 1989. — Vol. 49. — № 17. — P. 4835–4841.
7. *Всемирная Организация Здравоохранения* // *Материалы ежегодных отчетов.* — Санкт-Петербург. — 1981. — 286 с.
8. *Bradshaw R. S., et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1969. — V. 63. — P. 1389–1394.
9. *Protein measurement with the Folin phenol reagent* / *Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Fan A. Z., Randol R. J.* // *J. Biol. Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
10. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Высш. Школа. — 1967. — 326 с.
11. *Соловьева Н. И.* Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции // *Биоорганическая химия.* — 1998. — Т. 24, № 4. — С. 245–255.
12. *Гешелин С. А., Вовчук С. В., Близнюк Б. Ф., Варбанец В. Ф.* Активность протеолитической системы у больных раком молочной железы // *Вопр. онкологии.* — 1989. — Т. 35, № 10. — С. 1191–1198.
13. *Вовчук И. Л., Бендерская Н. В., Чернадчук С. С., Мотрук Н. В.* Тканевые протеиназы опухолей яичника и матки // *Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология"* — 2001. — Т. 14 (32), — № 2. — С. 17–20.
14. *Вовчук И. Л., Чернадчук С. С., Блохин Ю. В., Раздражнюк Г. С.* Активність карбоксипептидаз у тканинах новоутворень тіла матки // *Вісник ОНУ.* — 2004. — Т. 9, № 1. — С. 25–33.
15. *Чернадчук С. С., Вовчук И. Л.* Активность катепсина В в опухолевой ткани репродуктивных органов женщин // *Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология"* — 2003. — Т. 16 (55), № 2. — С. 202–207.

С. С. Чернадчук, И. Л. Вовчук

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина.
e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

АКТИВНОСТЬ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ МАТРИКСА (МІМ-2) В ТКАНЯХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ И МИОМЕТРИЯ

Резюме

Изучена активность металлопротеиназы-2 в тканях доброкачественных и злокачественных новообразований эндометрия и миометрия. Установлено, что в тканях доброкачественных новообразований активность металлопротеиназы-2 изменяется в зависимости от пролиферативного потенциала опухолевых клеток миометрия и эндометрия. Активность металлопротеиназы-2 в тканях злокачественной эпителиальной опухоли эндометрия — аденокарциноме — уменьшалась со степенью дифференциации опухолевых клеток.

Ключевые слова: металлопротеиназы, эндометрий, миометрий, аденокарцинома, опухоль.

S. S. Chernadchuk, I. L. Vovchuk

Odessa National I.I. Mechnikov University,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.
e-mail: chuk32@yandex.ru, irvov@mail.ru

**ACTIVITY OF METALLOPROTEINASES (MPM-2) IN THE TISSUES
WITH ONCOPATHOLOGY OF ENDOMETRIAL AND MIOMETRIAL**

Summary

The metalloproteinases-2 activity was studied in the tissues with benignant and malignant tumors of endometrial and miometrial. It was established that in the tissues of benignant tumors the activity of metalloproteinases-2 changes depends' on the vastness and depth of the oncoprocess and is defined by proliferating potential of the tumor cells of miometrial and endometrial. The activity of metalloproteinases-2 in the tissues of malignant epithelial tumor of endometrial — adenocarcenome — is decreasing with the level of differentiation of the tumor cells.

Keywords: metalloproteinases, endometrial, miometrial, adenocarcenome, tumor.