

УДК 616-006-036.1:618.11:577.152.34

Вовчук І. Л., канд. біол. наук, доц., Бендерська Н. В., асп.,
Чернадчук С. С., асп., Мотрук Н. В., асп.

Одеський національний університет, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРОТЕЇНАЗИ СИРОВАТКИ КРОВІ ЖІНОК З ДОБРОЯКІСНИМИ ТА ЗЛОЯКІСНИМИ ПУХЛИНАМИ РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ

Вивчали активність пептидгідролаз сироватки крові жінок, у яких гістологічно підтверджена наявність доброякісних або злоякісних пухлин репродуктивної системи. Встановлено, що на відміну від здорових жінок, наявність доброякісних пухлин молочної залози або ендометрію супроводжується значним зменшенням активності як трипсиноподібних, так і катепсин-D-подібних протеїназ у сироватці крові. В протилежність цьому неопластичні процеси в тканині яєчника супроводжуються збільшенням активності досліджуваних протеїназ у сироватці крові, а рівень активації катепсин-D-подібних протеїназ корелює зі ступенем злоякісності цього процесу. Наявність злоякісної пухлини в молочній залозі супроводжується збільшенням активності трипсиноподібних ферментів, а в ендометрії — катепсин-D-подібних протеїназ сироватки крові. Отримані результати можуть бути використані для розробки біохімічних критеріїв діагностики та прогнозу пухлин репродуктивної системи,

Ключові слова: трипсиноподібні протеїнази, катепсин-D-подібні протеїнази, молочна залоза, ендометрій, яєчники, рак.

За останні 10-20 років кількість хворих жінок з новоутвореннями статевих органів постійно збільшується [1, 2].

Найважливішими діагностичними та прогностичними критеріями онкопроцесу є ензиматичні характеристики пухлинної тканини, сироватки крові та інших біологічних рідин [3, 4].

Увага до вивчення протеолітичних ферментів при злоякісних новоутвореннях пов'язана з їх різноманітними впливами на процес канцерогенезу [5, 6, 7, 8, 9]. Ці ферменти беруть участь у захисних реакціях організму і мають пряме відношення до поділу та зростання клітин [10, 11], а також до процесів метастазування [12].

Літературні дані свідчать, що за наявністю злоякісного росту як в самій пухлинній тканині, так і в біологічних рідинах змінюється активність пептидгідролаз [3, 4, 5, 6, 7].

У зв'язку з цим ми досліджували активність деяких протеолітичних ферментів у сироватці крові онкохворих жінок з метою подальшої розробки біохімічних критеріїв диференціальної діагностики доброякісних та злоякісних новоутворень репродуктивних органів.

Матеріали і методи

За контроль правила сироватка крові 45 жінок-донорів Одеської станції переливання крові. Одночасно досліджували сироватку крові 93 хворих жінок, у яких були діагностовані доброякісні новоутворення: фіброзно-кистозна хвороба молочної залози (25 випадків), гіперплазія ендометрію різного походження (47 випадків) та рубцевий склероз яєчників (21 випадок). Досліджували також сироватку крові у 79 хворих жінок зі злоякісними новоутвореннями: дольчато-протоковим раком молочної залози (46 випадків), карциномою яєчника (17 випадків) та аденокарциномою ендометрію (16 випадків).

Усі дослідження сироватки крові провадили до операційного та терапевтичного лікування хворих. Кров натщесерце брали з ліктьової вени в об'ємі 15 мл і центрифугували при 2000 об/хв упродовж 15 хвилин.

В подальшому в сироватці крові визначали загальну активність трипсиноподібних протеїназ (трипсину — КФ 3.4.21.4, хімотрипсину — КФ 3.4.21.1, еластази — КФ 3.4.21.11, карбоксипептидази — КФ 3.4.12, катепсинів А та В, плазміну — КФ 3.4.21.7 та ін.) за методом Kunitz [12] по ступеню гідролізу казеїну при рН 7,6. Активність катепсин-D-подібної протеїнази (КФ 3.4.23.5) визначали за гідролізом гемоглобіну при рН 3,5 [13].

Питому активність виражали в нмоль тирозину на 1 кг білка. Вміст білка визначали за методом Лоурі [14] та виражали в г на 1 л сироватки.

Оцінку вірогідності отриманих результатів провадили за t-критерієм Стьюдента [15].

Результати досліджень

Нами встановлено, що питома активність катепсин-D-подібних протеїназ у сироватці крові за наявності у жінок доброякісних пухлин збільшується в 2,5 рази у порівнянні з контролем, в той час як злоякісний процес призводить до значно більшого зростання активності даних протеїназ. У порівнянні з показниками здорових жінок та жінок з доброякісними новоутвореннями питома активність досліджуваних протеїназ у хворих з злоякісними пухлинами зростала в 4,67 та в 1,85 рази відповідно (табл. 1).

В протилежність цьому, активність трипсиноподібних протеїназ сироватки крові жінок з доброякісними новоутвореннями практично не відрізнялась від зазначеної активності у здорових жінок, проте зростала у 2,52 рази за наявності злоякісного новоутворення в яєчниках.

Зазначена активація протеїназ може відбуватися за рахунок гіперекспресії генів або шляхом обмеженого протеолізу неактивних попередників ферментів. Крім того, певну роль можуть грати зміни в активності/синтезі ендогенних інгібіторів даних пептидгідролаз. Описані випадки підвищення активності вже функціонуючих в клітині протеїназ, хоча механізм цього явища ще недостатньо вивчений [16, 17].

Таблиця 1

Питома активність катепсин-D-подібних та трипсиноподібних протеїназ у сироватці крові здорових жінок та у жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами яєчників (нмоль тирозину/кг білка)

Досліджувані групи жінок	n	Питома активність пептидгідролаз (нмоль тирозину/кг білка)	
		катепсин-D-подібних	трипсиноподібних
Здорові	15	87,89±8,80	51,59±5,42
З рубцевим склерозом	21	221,71±22,68*	66,30±6,42
З карциномою	17	409,64±41,91*	130,38±13,33*

Примітка: * — різниця між показниками здорових жінок і жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами вірогідна

Щодо активності катепсин-D-подібних протеїназ сироватки крові, то при наявності гіперпластичних процесів у молочній залозі їй властиве приблизно однакове зменшення (у 1,5-1,6 раз) незалежно від якісної природи пухлини (табл. 2).

Для активності трипсиноподібних протеїназ виявлено інші закономірності. Ця активність у сироватці крові хворих жінок з доброякісною фіброзно-кістозною хворобою зменшується у 3,5 рази в порівнянні з показниками здорових жінок. Можна припустити, що у жінок з доброякісними новоутвореннями молочної залози одночасно відбувається як пригнічення синтезу трипсиноподібних ферментів, так і інтенсифікація біосинтезу їх ендогенних інгібіторів. На відміну від цього, наявність дольчато-протокового раку призводить до значного підвищення (у 2,6-9,0 разів) питомої активності трипсиноподібних протеїназ відносно такого ж показника здорових жінок.

Таблиця 2

Питома активність катепсин-D-подібних та трипсиноподібних протеїназ у сироватці крові здорових жінок та у жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами молочної залози (нмоль тирозину/кг білка)

Досліджувані групи жінок	n	Питома активність пептидгідролаз (нмоль тирозину/кг білка)	
		катепсин-D-подібних	трипсиноподібних
Здорові	15	83,55±9,43	48,69±5,42
З фіброзно-кістозною хворобою	25	50,69±6,31	14,03±1,77*
З дольчато-протоковим раком	46	53,49±5,87	126,54±12,89*

Примітка: * — різниця між показниками здорових жінок і жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами вірогідна

Доброякісна гіперплазія ендометрію характеризується зменшенням активності як катепсин-D-подібних, так і трипсиноподібних протеїназ у 2,3-2,1 рази в порівнянні з контролем (табл. 3).

При визначенні ферментативної активності у хворих жінок із злоякісним переродженням ендометрію виявлено зростання лише катепсино-D-протеїназної активності (у 1,9 рази) у порівнянні з контрольною групою.

Підводячи підсумки, можна стверджувати, що наявність злоякісного процесу у тканинах яєчника та ендометрію матки характеризується значним підвищенням активності катепсин-D-подібних протеїназ сироватки крові. Високі значення цієї активності свідчать на можливу наявність новоутворень, що може бути використане для попередньої та диференційної діагностики пухлинного процесу в тканинах яєчника та матки.

Таблиця 3

Питома активність катепсин-D-подібних та трипсиноподібних протеїназ у сироватці крові здорових жінок та у жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами ендометрію (нмоль тирозину/кг білка)

Досліджувані групи жінок	n	Питома активність пептидгідролаз (нмоль тирозину/кг білка)	
		катепсин-D-подібних	трипсиноподібних
Здорові	15	61,82±6,93	43,65±4,71
З ендометріальною гіперплазією	47	26,81±3,11*	20,81±2,34*
З аденокарциномою	16	116,83±13,65*	47,66±5,11*

Примітка: * — різниця між показниками здорових жінок і жінок з доброякісними та злоякісними пухлинами вірогідна

В протилежність цьому, у хворих з патологією молочної залози активність зазначених ферментів не відрізняється від показників здорових жінок, а тому не може слугувати діагностичним критерієм. У цьому випадку більш показовим є аналіз активності трипсиноподібних пептидгідролаз.

На наш погляд, вищезначені ензиматичні дослідження сироватки крові та біопсійного матеріалу, є досить інформативними і добре характеризують якість пухлин та стан організму на певних стадіях пухлинної хвороби. Завдяки цьому їх можна використати для комплексного обстеження хворих і раннього діагностування новоутворень.

Література

1. Шалімов С. О., Федоренко З. П. Концепція протиракової боротьби в Україні // *Медицинские вести*. — 1997. — Т. 17, № 4. — С. 13-16.
2. Аксель Е. М., Летягин В. П. Статистика рака молочной железы в России // *Маммология*. — 1998. — Т. 26, № 1. — С. 3-18.
3. Бохман Я. В. Лекции по онкологии. — Ташкент: Медицина, 1985. — 166 с.

4. Веремеєнко К. Н., Голобородько О. П. Протеолиз и злокачественный рост // *Вопр. мед. химии.* — 1986. — Т. 32., № 6. — С. 17-25.
5. Вишневская Е. Е. Справочник по онкологии. — Минск: Высш. школа, 1994. — С. 18-21.
6. Гарин А. М. Факты, достижения и неудачи современной онкологии. — Алма-Ата: Наука, 1980. — С. 34-35.
7. Гешелин С. А., Вовчук С. В., Близнюк Б. Ф., Варбанец В. Ф. Протеолитические ферменты и их ингибиторы в клинической и экспериментальной онкологии // *Вопр. мед. химии.* — 1984. — Т. 30, № 10. — С. 9-18.
8. Глебова М. И. Рак матки. — Москва: Наука, 1986. — С. 51-54.
9. Дізік А. Ю. Активність компонентів протеолітичної системи у хворих доброякісними новоутвореннями та раком яєчників // Автореф. дис.... канд. мед. наук — 1993. — С. 7-21.
10. Злоякісні новоутворення в Україні 1993 — 1998 р. р. — Київ.: Медицина, 1999. — 18 с.
11. Козырева Е. А., Жордания К. И., Бассалык Л. С., Васильев А. В. Протеолитические ферменты лизосом при раке яичников // *Вопр. мед. химии.* — 1991. — Т. 37, № 4. — С. 20-23.
12. Kunitz M. I. The determination of kaseine in the blood and urine // *Biol. Chem.* — 1946. — V. 164, № 11. — P. 563-571.
13. Anson M., Mirsky A. The estimation of pepsin with hemoglobin // *G. Gen. Physiol.* — 1932. — V. 16, № 1. — P. 59-67.
14. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. Z., Randal L. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265-275.
15. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высш. школа, 1967. — 326 с.
16. Козырева Е. А., Жордания К. И., Бассалык Л. С., Васильев А. В. Прогностическое значение определения активности катепсина В в злокачественных опухолях яичников // *Вопр. мед. химии.* — 1994. — Т. 40, № 1. — С. 25-27.
17. Sloane B. F., Honn R. V. // *Cancer Metastas. Rev.* — 1984. — V. 3, № 8 — P. 249-263.

Вовчук И. Л., Бендерская Н. В., Чернадчук С. С., Мотрук Н. В.

Одесский национальный университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ПРОТЕИНАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ

Резюме

Исследовали активность пептидгидролаз сыворотки крови женщин, у которых гистологически подтверждено наличие доброкачественных или злокачественных опухолей репродуктивных органов. Установлено, что в отличие от здоровых женщин наличие доброкачественных опухолей молочной железы или эндометрия сопровождается значительным снижением активности как трипсиноподобных, так и катепсин-D-подобных протеиназ в сыворотке крови. Неопластические процессы в ткани яичника сопровождаются увеличением активности изучаемых протеиназ в сыворотке крови, а уровень активации катепсин-D-подобных протеиназ коррелирует со степенью злокачественности данного процесса. Наличие злокачественной опухоли в молочной железе сопровождается увеличением активности трипсиноподобных, а в эндометрии — катепсин-D-подобных протеиназ сыворотки крови.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки биохимических критериев диагностики и прогноза опухолей органов репродуктивной системы.

Ключевые слова: трипсиноподобные протеиназы, катепсин-D-подобные протеиназы, молочная железа, эндометрий, яичники, рак.

Vovchuk I. L., Benderskaya N. V., Chernadchuk S. S., Motruk N. V.
Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**THE BLOOD SERUM PROTEINASES OF WOMEN WITH MALIGNANT
AND NON-MALIGNANT TUMORS OF REPRODUCTIVE ORGANS**

Summary

Peptidhidrolase activity in blood serum of women who had non-malignant or malignant tumors of reproductive organs has been analyzed. We established that the activity of trypsin-like and cathepsine-D-like proteinases in women with breast or endometrial non-malignant tumors showed a significant decrease in comparison with healthy women. Neoplastic processes in the ovarian tissue are accompanied with an increase of the activity of the studied proteinases in blood serum of cancer carriers and the level of cathepsine-D-like proteinases activity correlates with the stage of malignancy this process. The presence of the breast malignant tumor is accompanied with an increase of the activity of trypsin-like proteinases and specific cathepsine-D-like proteinases in blood serum increase their activity in the endometrial tissue.

So the obtained data can be used to develop biochemical methods of tumor prognostication and diagnosis in female reproductive system as one of the additional criteria.

Key words: trypsin-like proteinases, cathepsine-D-like proteinases, breast, endometrial, ovarian cancer.