Биомедицинская химия, 2009 том 55, вып. 1, с. 89-97.

УДК 616-006:577.156.152.344

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕАЗ ЛИЗОСОМ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

С.Я. Жанаева*, А.И. Дьяков, Т.А. Алексеенко, Т.А. Короленко

ГУ НИИ физиологии СО РАМН, 630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4, тел.: 334-89-56; эл. почта: djsja@mail.ru

В представленной работе изучено влияние противоопухолевых препаратов циклофосфана (ЦФ) и нитрозометилмочевины (НММ), обладающих высокой и низкой противоопухолевой эффективностью относительно чувствительной (ЛС) и резистентной (РЛС) к ЦФ лимфосаркомы мышей, соответственно, на активность катепсинов В и L в ткани опухоли. Было обнаружено, что регрессия или торможение опухолей ЛС или РЛС при введении ЦФ или НММ сопровождается повышением активности цистеиновых протеаз катепсинов В и L в ткани опухоли. Степень увеличения активности этих ферментов была пропорциональна величине терапевтического эффекта применяемых препаратов. Обсуждаются причины повышения активности протеаз в ткани опухоли. Сделан вывод, что полученные на экспериментальном материале результаты свидетельствуют о перспективности использования показателей активности цистеиновых протеаз для прогноза эффективности противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: цистеиновые протеазы, злокачественные опухоли, прогностическая значимость.

ВВЕДЕНИЕ. Роль протеаз различных классов и их эндогенных ингибиторов в развитии и метастазировании опухолей является предметом многочисленных исследований последнего десятилетия [1-3]. К наиболее важным протеолитическим системам, связанным с процессами диссеминации опухоли, относят различные типы металлопротеиназ и их ингибиторы, активаторы и ингибиторы плазминогена, а также лизосомальные катепсины и их ингибиторы. Предполагают, что протеазы, секретируемые опухолевыми клетками или окружающими опухоль клетками стромы, разрушают белки внеклеточного матрикса, базальных мембран и таким образом способствуют инвазии опухолевых клеток вглубь здоровых тканей, их интра- и экстравазации, а также участвуют в процессах ангиогенеза опухоли [1-6].

Протеазы лизосом - катепсины В и L - 2 наиболее изученных представителя семейства папаиноподобных цистеиновых протеаз. Это относительно небольшие белки с молекулярной массой около 30 кДа, максимально активные в слабокислой среде лизосом при pH от 4,0 до 6,0 [1, 7]. Они обнаружены в лизосомах

* - адресат для переписки

большинства клеток организма млекопитающих и относятся к так называемым белкам домашнего хозяйства. В максимальных концентрациях катепсины B и L содержатся в лейкоцитах (макрофагах и нейтрофилах) [1, 7, 8]. Основной функцией катепсинов B и L является внутрилизосомный гидролиз белков [1, 7, 8]. Помимо этого показано их участие в активации или модификации каталитических свойств ряда ферментов, во внеклеточном гидролизе компонентов межклеточного матрикса, что определяет функции катепсинов B и L во многих биологических процессах, связанных главным образом с ремоделированием тканей (овуляция, эмбриональное и постнатальное развитие, старение, иммунные реакции, развитие воспалительных и опухолевых процессов) [1-3, 8, 9]. Исследуется участие этих ферментов в процессах роста, регуляции клеточного цикла, подвижности здоровых и опухолевых клеток [9, 10].

Установлено, что цистеиновые протеазы лизосом играют весьма значительную роль в механизмах роста и метастазирования злокачественных опухолей [1-3, 5]. Показано, что в тканях ряда злокачественных опухолей человека и животных, в отличие от доброкачественных опухолей того же гистогенеза и окружающих опухоль здоровых тканей, повышены концентрация и активность цистеиновых протеаз лизосом, изменен уровень их внутри- и внеклеточных ингибиторов [1, 2, 5, 11]. У человека описано повышение активности цистеиновых протеаз катепсинов B и L в тканях карциномы молочной железы [11], опухоли легкого [12], желудка, прямой кишки [13], головы и шеи [14] и др.

Показатели экспрессии и активности катепсинов B и L в опухолевой ткани и сыворотке крови предлагают использовать в качестве дополнительных маркеров, отражающих степень малигнизации опухоли [5, 6, 11, 15, 16]. Так, обнаружено, что в опухоли молочной железы [17], головного мозга [14], толстого кишечника [18] и лёгкого [12] внутриклеточная концентрация и активность цистеиновых протеаз и их ингибиторов повышается с приобретением ими инвазивного и метастатического фенотипа; в клетках меланомы, карциномы прямой кишки, желудка, головы и шеи уровень экспрессии катепсинов B и/или L положительно коррелирует с их метастатическим потенциалом и способностью к миграции опухолевых клеток [15, 16].

Проводятся интенсивные исследования прогностический значимости цистеиновых протеаз лизосом в определении общей и безрецидивной выживаемости больных с онкологическими заболеваниями [1, 5, 11-13]. Показано, что у больных с карциномой головы, молочной железы или лёгкого более высокие показатели концентрации и активности цистеиновых протеаз в сыворотке крови или ткани опухоли коррелируют с меньшей продолжительностью жизни и более высоким риском рецидивирования опухоли [5, 11-13].

Протеазы опухолевых клеток по ряду параметров отличаются от протеаз здоровых клеток и тканей. Малигнизированные клетки (также как и активированные макрофаги) приобретают способность к секреции лизосомальных протеаз как в активной форме, так и в виде неактивных проформ [5, 15]. Эти изменения связывают с изменениями степени гликозилирования протеаз лизосом [15]. Для некоторых видов опухолей описаны нарушения внутриклеточного транспорта и локализации ферментов лизосом [19]. Если в норме они содержатся главным образом в лизосомах клеток, то при опухолевой трансформации лизосомальные протеазы обнаруживаются также в ядре и цитоплазме клеток, появляются мембранно-связанные формы протеаз [1, 5, 11, 19].

С другой стороны, получены данные об участии цистеиновых протеаз в реализации различных программ клеточной гибели - апоптоза, некроза, апонекроза [7, 20]**.** Показано, что катепсин B необходим для реализации индуцированного при помощи TNF-α или оксидативного стресса апоптоза гепатоцитов мыши, кардиомиоцитов, фибробластов или клеток фибросаркомы [7, 20, 21]. Предполагают, что катепсины лизосом участвуют в активации каспаз, а также могут индуцировать апоптоз по каспазонезависимому пути [7, 21, 22].

Целью настоящей работы было изучение роли цистеиновых протеаз лизосом в реализации апоптоза опухолевых клеток и зависимости эффективности противоопухолевой терапии от активности этих ферментов в ткани опухоли. Было изучено влияние противоопухолевых препаратов циклофосфана (ЦФ) и нитрозометилмочевины (НММ) на активность катепсинов В и L в тканях перевиваемой мышиной лимфосаркомы ЛС, высокочувствительной к цитостатическому препарату циклофосфамиду (ЦФ) и полученного из нее резистентного к ЦФ штамма лимфосаркомы - РЛС [23].

МЕТОДИКА. Работа выполнена на половозрелых мышах самцах линии СВА и гибридах первого поколения СВА×C57Bl массой 25-30 г, полученных из вивария ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН г. Томска. Эксперименты проводили в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных”. Животных содержали по 9-10 особей в клетке при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище (гранулированный комбикорм ПК 120-1 ООО “Лабораторснаб”, Москва для лабораторных крыс и мышей, сбалансированный по аминокислотному составу, минеральным веществам и витаминам и воду *ad libitum*).

Использованные в работе опухоли – лимфосаркому ЛС и полученный из нее резистентный к апоптогенному действию циклофосфана (ЦФ) штамм - РЛС [1] - перевивали животным в мышцы бедра в количестве (1-2)×10^6 и 5×10^4 клеток на мышь соответственно. Для этого криоконсервированную взвесь клеток ЛС или РЛС размораживали и в течение одного пассажа в асцитной форме адаптировали на мышах линии СВА. Асцит, содержащий опухолевые клетки, извлекали из брюшной полости мышей, разводили физиологическим раствором до необходимых концентраций и трансплантировали животным в мышцы правого бедра по 0,1 мл суспензии.

Циклофосфан (ЦФ, АО “Биохимик”, Саранск) и нитрозометилмочевину (НММ) растворяли в изотоническом растворе NaCl и вводили животным однократно внутрибрюшинно в дозах 50 или 150 мг/кг на 10 сутки после перевивки опухолей. Через 1, 2 и 3-е суток после введения ЦФ животных забивали методом декапитации. По разнице веса задней конечности с опухолью и колатеральной вычисляли вес опухоли. Противоопухолевый эффект ЦФ оценивали по торможению роста опухолей и по количеству животных с полной ремиссией. Степень торможения опухоли рассчитывали по формуле: $[(M_{\text{контр.}}-M_{\text{сред.}})/M_{\text{контр.}}]\times 100\%$, где $M_{\text{сред.}}$ – среднее значение массы опухоли у животных данной группы, $M_{\text{контр.}}$ – среднее значение массы опухоли в группе контрольных животных.

Печень, селезенку и опухоль извлекали, гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы pH 7,2 и в гомогенатах определяли активность катепсинов В и L по методу Barrett, Kirschke [24]. В качестве субстратов использовали соответственно Z-L-Phe-L-Arg-MCA и Z-L-Arg-L-Arg-MCA (“Sigma”, США), для определения активности катепсина L – применяли селективный ингибитор катепсина В CA-074 (любезно предоставленный проф. K. Hanada, Япония). Флуоресценцию растворов определяли при помощи флуоресцентного спектрофотометра "Perkin Elmer 650-10S"; результаты выражали в нмоль освобожденного в результате ферментативной реакции метилкумариламида (МКА) в минуту в расчете на мг белка.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В наших предварительных экспериментах было показано, что однократное введение ЦФ в дозе 50 или 150 мг/кг мышам с чувствительной к ЦФ ЛС вызывало регрессию опухоли у 100% животных. При введении ЦФ в дозе 150 мг/кг ремиссия была необратимой. В течение первых двух суток после введения ЦФ рост опухоли замедлялся, на 3-и сутки инициировалось обратное развитие опухолевых имплантатов, а на 6-е сутки опухоли переставали пальпироваться. Торможение роста ЛС на 3 сутки после введения ЦФ в дозе 50 и 150 мг/кг составило соответственно 75% и 81% (табл. 1).

Таблица 1. Влияние ЦФ (50 и 150 мг/кг) и НММ (150 мг/кг) на массу чувствительной (ЛС) и резистентной (РЛС) к ЦФ лимфосаркомы.

Группы животных	Масса опухоли, г	Торможение роста опухоли, %
	ЛС	
контроль	4,92 ± 0,058	-
ЦФ 50 мг/кг	1,29 ± 0,065 ***	74%
ЦФ 150 мг/кг	1,01 ± 0,105 ***	81%
НММ 150мг/кг	2,51 ± 0,161 ***	49%
	РЛС	
контроль	4,95 ± 0,280	-
ЦФ 50 мг/кг	3,51 ± 0,268*	30 %
ЦФ 150 мг/кг	3,55 ± 0,254*	29 %

Примечание: * - $p<0,05$, *** - $p<0,001$ по сравнению с контрольными животными.

У мышей с резистентной к ЦФ лимфосаркомой однократное введение ЦФ даже в дозе 150 мг/кг приводило к незначительному торможению роста опухоли в течение первых 2-х суток после введения, в дальнейшем рост опухоли возобновлялся и шел с той же скоростью, что и у контрольных животных с РЛС без лечения. Торможение роста РЛС на 3 сутки после введения ЦФ в обеих дозировках составило около 30 % (табл. 1).

Введение мышам с ЛС малоэффективного в отношении этой опухоли препарата НММ (150 мг/кг) также как и при неэффективном лечении РЛС циклофосфамидом индуцировало непродолжительное (в течение первых 2-х суток) торможение роста опухоли. На третьи сутки после введения НММ торможение роста опухоли составило 49% (табл. 1).

Применение как ЦФ, так и НММ приводило к увеличению активности цистеиновых протеаз катепсинов В и L в тканях обоих штаммов (ЛС и РЛС) лимфосаркомы. Повышение активности ферментов было отмечено на 3 сутки после введения препаратов, что по времени совпадало с инициацией регрессии опухоли. В течение первых двух суток при отсутствии изменений массы опухоли активность ферментов в опухолевой ткани значительно не изменялась (рис. 1, 2).

Максимальное повышение активности ферментов - катепсина В в 5,8 раз, а катепсина L в 20 раз - было выявлено в опухолевых тканях у мышей, получавших ЦФ в дозе 150 мг/кг, с наиболее значительными показателями торможения роста опухоли (рис. 1). В опухолях со средними показателями торможения роста показатели повышения активности ферментов также были средними: при введении мышам с ЛС ЦФ в дозе 50 мг/кг активность катепсинов В и L увеличилась в 4,8 и в 8,7 раз, а при введении НММ в 1,8 и в 3,6 раз соответственно (рис. 1). Наименьшее повышение активности ферментов было выявлено в ткани РЛС у мышей, леченных ЦФ, с наименьшими показателями торможения роста опухоли (рис. 2).

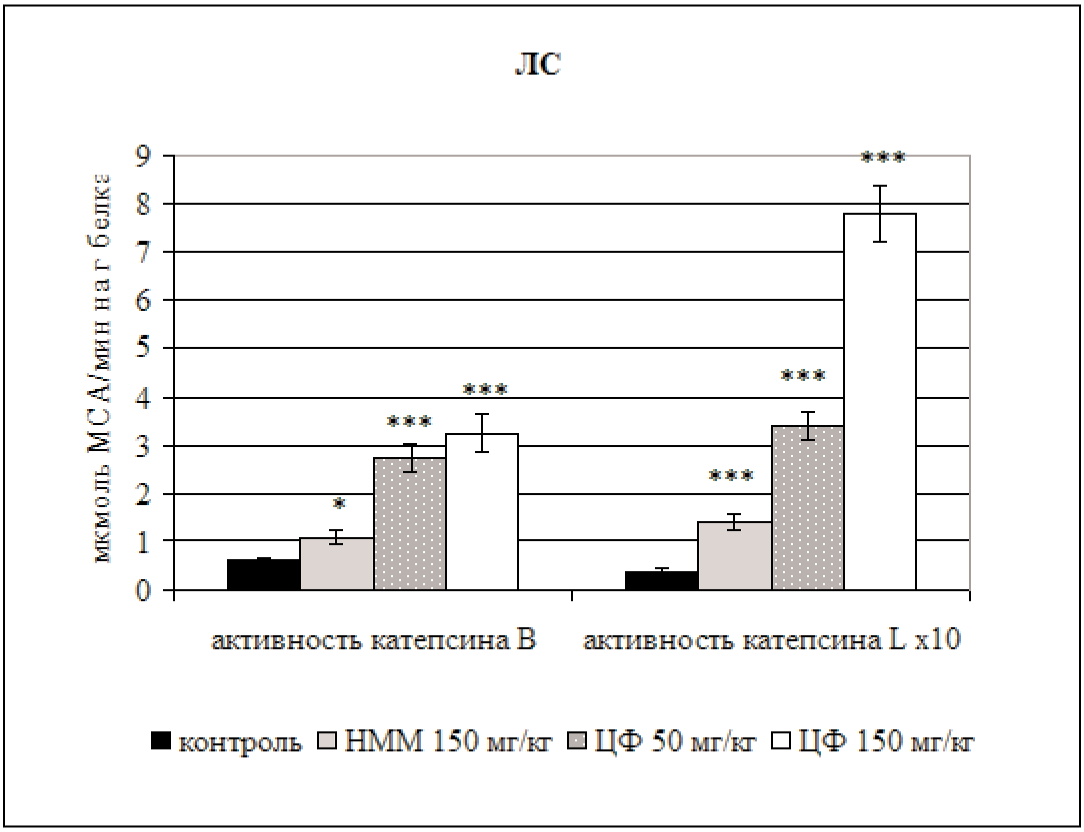

Рисунок 1.
Активность катепсинов B и L в ткани чувствительной к апоптогенному действию ЦФ лимфосаркомы ЛС на 3 сутки после однократного введения циклофосфамида (50 и 150 мг/кг) или нитрозометилмочевины (150 мг/кг).
Примечание: * - p<0,05, *** - p<0,001 по сравнению с контрольной группой животных.

Таблица к рисунку 1. Изменение активности катепсинов B и L в ткани ЛС на 3 сутки после однократного введения циклофосфамида (50 и 150 мг/кг) или нитрозометилмочевины (150 мг/кг).

Группы мышей	Катепсин B, мкмоль МСА/мин на г белка	Катепсин L, мкмоль МСА/мин на г белка
ЛС		
Контроль, 12 сут	0,56 ± 0,060	0,039 ± 0,007
ЦФ, 50 мг/кг 72 ч	2,72 ± 0,290 ***	0,34 ± 0,030 ***
ЦФ, 150 мг/кг 72 ч	3,24 ± 0,390 ***	0,78 ± 0,097 ***
НММ, 150 мг/кг	1,05 ± 0,140 *	0,14 ± 0,018 ***

Примечание. На рисунке активность катепсина L представлена в 10-кратном увеличении “активность катепсина L ×10”

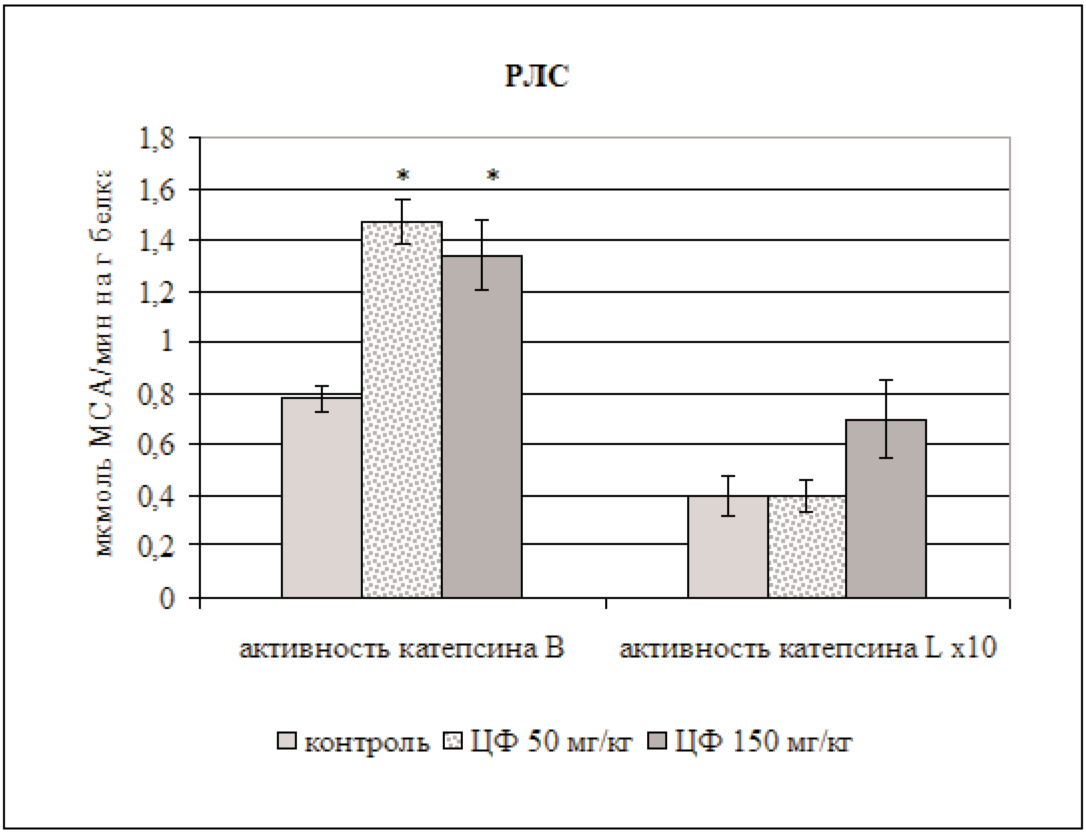

Рисунок 2.
Активность катепсинов В и L в ткани резистентной к ЦФ лимфосаркомы РЛС на 3 сутки после однократного введения циклофосфамида в дозе 50 или 150 мг/кг
Примечание: * - р<0,05 по сравнению с контрольной группой животных.

Таблица к рисунку 2. Изменение активности катепсинов В и L в ткани РЛС на 3 сутки после однократного введения циклофосфамида в дозе 50 или 150 мг/кг.

Группы мышей	Катепсин В, мкмоль МСА/мин на г белка	Катепсин L, мкмоль МСА/мин на г белка
РЛС		
Контроль, 12 сут	0,78 ± 0,049	0,04 ± 0,008
ЦФ, 50 мг/кг 72 ч	1,47 ± 0,086 * (1,9 раза)	0,07 ± 0,006
ЦФ, 150 мг/кг 72 ч	1,34 ± 0,136 * (1,7 раза)	0,07 ± 0,015

Примечание: * - р< 0,01; ** - р< 0,001 по сравнению с контролем.

Активность катепсинов В и L *в печени* мышей с ЛС и РЛС при воздействии ЦФ и НММ не изменялась (табл. 2), *в селезёнке* она во всех случаях увеличивалась в 1,5 – 2 раза (табл. 2), что указывает на специфичность наблюдаемых изменений протеаз для опухолевой ткани.

Таблица 2. Влияние ЦФ (50 и 150 мг/кг, в/б) и НММ (150 мг/кг, в/в) на активность катепсинов В и L в печени и селезенке мышей с чувствительной и резистентной к ЦФ лимфосаркомой ЛС.

Группы животных	**Катепсин В, мкмоль МСА/мин на г белка**	**Катепсин L, мкмоль МСА/мин на г белка**
ЛС		
печень		
контроль	**0,91 ± 0,078**	**0,66 ± 0,035**
ЦФ, 50 мг/кг	**0,86 ± 0,021**	**0,63 ± 0,035**
ЦФ, 150 мг/кг		
НММ, 150 мг/кг	**0,96 ± 0,041**	**0,83 ± 0,068*** $P_{2-3} < 0,05$
селезенка		
контроль	**1,27 ± 0,112**	**0,11 ± 0,011**
ЦФ, 50 мг/кг	**2,08 ± 0,162****	**0,12 ± 0,006**
НММ, 150 мг/кг	**2,76 ± 0,111***** $P_{2-3} < 0,01$	**0,16 ± 0,007**** $P_{2-3} < 0,01$
РЛС		
печень		
контроль	**0,78 ± 0,069**	**0,67 ± 0,038**
ЦФ, 50 мг/кг	**0,88 ± 0,045**	**0,70 ± 0,025**
ЦФ, 150 мг/кг	**0,84 ± 0,109**	**0,73 ± 0,049**
селезенка		
контроль	**1,28 ± 0,076**	**0,10 ± 0,008**
ЦФ, 50 мг/кг	**2,14 ± 0,239***	**0,12 ± 0,012**
ЦФ, 150 мг/кг	**2,80 ± 0,217***** $p_{2-3} < 0,05$	**0,21 ± 0,012***** $p_{2-3} < 0,001$

Примечание: * - р < 0,05, ** - р < 0,01, *** - р < 0,001 по сравнению с контролем (нелечеными мышами).

Таким образом, полученные данные показывают, что воздействие ЦФ или НММ, приводящее к регрессии или торможению роста ЛС или РЛС, сопровождается повышением активности цистеиновых протеаз-катепсинов В и L в ткани опухоли, причем степень увеличения активности этих ферментов пропорциональна величине терапевтического эффекта применяемых препаратов. Максимальное повышение активности ферментов было выявлено в ткани ЛС с наиболее выраженными показателями регрессии опухоли при применении ЦФ в дозе 150 мг/кг, минимальные изменения активности протеаз наблюдались в ткани РЛС, проявляющей свойства лекарственной устойчивости к действию ЦФ.

Возникает вопрос, насколько закономерно повышение активности катепсинов В и L в ткани опухоли при её успешном лечении и могут ли показатели активности цистеиновых протеаз (в частности, показатели активности катепсинов В и L) служить критерием эффективности противоопухолевой терапии? Возможно, наблюдаемые различия в уровне активации ферментов связаны с различными механизмами противоопухолевого действия использованных цитостатиков. Как было показано в работах В.И. Каледина и соавт., клетки лимфосаркомы ЛС проявляют относительно низкую чувствительность к действию гамма-излучения, комплексных соединений платины, нитрозометилмочевины, адриамицина и исключительно высокую чувствительность к ЦФ [23]. Известно, что действие ЦФ на клетки чувствительного к ЦФ штамма ЛС реализуется главным образом через апоптоз её клеток [23]. Опухоль РЛС, полученная из рецидива ЛС после неудачного лечения ЦФ, напротив, характеризуется низкой чувствительностью к индукции апоптоза при воздействии ЦФ [23]. Механизм действия НММ на клетки данной опухоли не изучался. Однако, согласно литературным данным, НММ обладает циклонеспецифической генотоксической активностью, основным механизмом противоопухолевого действия НММ является алкилирование нуклеиновых кислот и белков.

В наших исследованиях значительное повышение активности катепсинов B и L в ткани, чувствительной к ЦФ ЛС, вероятно, явилось следствием индукции апоптоза клеток ЛС при воздействии ЦФ. Следует отметить, что в литературе также описаны примеры повышения активности катепсина В и аспартильной протеазы катепсина D [7, 9, 20-22] в нормальных и опухолевых клетках в состоянии апоптоза. В наших более ранних исследованиях было показано, что применение специфического ингибитора цистеиновых протеаз Ep-475 снижает терапевтический эффект ЦФ у мышей с ЛС [25].

Остаются невыясненными клеточные источники повышения активности протеаз. Поскольку в наших экспериментах активность протеаз определялась в гомогенатах опухоли, нельзя утверждать, что она увеличивалась именно в опухолевых клетках, источником увеличения активности протеаз могли быть также тканевые макрофаги и лимфоциты, в массе инфильтрирующие опухоли, находящиеся в состоянии апоптоза или некроза. Этот вопрос требует специального изучения.

Тем не менее, можно заключить, что каким бы ни был механизм повышения активности протеаз в ткани опухоли при терапевтическом воздействии, её величина может, очевидно, рассматриваться как определенный показатель эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Dickinson D.P.* (2002) Crit. Rev. Oral. Biol., **13,** 238-275.
2. *DeClerck Y.A., Mercurio A.M., Stack M.S., Chapman H.A., Zutter M.M., Muschel R.J., Raz A., Matrisian L.M., Sloane B.F., Noel A., Hendrix M.J., Coussens L., Padarathingh M.* (2004) Am. J. Physiol., **164**, 1131-1139.
3. *Van Hinsbergh V.W.M., Engelse M.A., Quax P.H.A.* (2006) J. Am. Heart Association, **26**, 716-728.
4. *Buck M.R., Karustis D.G., Day N.A., Honn K.V., Sloane B.F.* (1992) Biochem. J., **282**, 273-277.
5. *Kos J., Werle B., Lah T., Brunner N.* (2000) Int. J. Biol. Marker, **15**, 84-89.
6. *Ravanko K., Järvinen K., Helin J., Kalkkinen N., Hölttä E.* (2004) Cancer Res., **64**, 8831-8838.
7. *Stoka V., Turk B., Turk V.* (2005) IUBMB Life, **57**, 347-353.
8. *Buhling F., Waldburg N., Reisenauer A., Heimburg A., Golpon H., Welte T.* (2004) Eur. Respir. J., **23**, 620-628.
9. *Tobin D.J., Foitzik K., Reinheckel T., Mecklenburg L., Botchkarev V.A., Peters C., Paus R.* (2002) Am. J. Pathol., **160**, 1807–1821.
10. *Guo M., Mathieu P.A., Linebaugh B., Sloane B.F., Reiner J.J.* (2002) J. Biol. Chem., **277**, 14829–14837.

11. *Lah T.T., Cercek M., Blejek A., Kos J., Gorodetsky E., Somers R., Daskal I.* (2000) Clin. Cancer Res., **6**, 578-584.
12. *Ledakis P., Tester W.T., Rosenberg N., Romero-Fischmann D., Daskal I., Lah T.T.* (1996) Clin Cancer Res., **2**, 561–568.
13. *Hazen L.G.M., Bleeker F.E., Lauritzen B., Bahns S., Song J., Jonker A., van Driel B.E.M., Lyon H., Hansen U., Kohler A., van Noorden C.J.F.* (2000) J. Histochem. Cytochem., **48**, 1421–1430.
14. *Strojan P., Budihna M., Smid L., Svetic B., Vrhovec I., Kos J., Skrk J.* (2000) Clin. Cancer Res., **6**, 1052-1062.
15. *Rozhin J., Gomez A.P., Ziegler G.H., Nelson K.K., Chang Y.S., Fong D., Onoda J.M., Honn K.V., Sloane B.F.* (1990) Cancer Res., **50**, 6278-6284.
16. *Szpaderska A.M., Frankfater A.* (2001) Cancer Res., **61**, 3493-3500.
17. *Vasiljeva O., Papazoglou A., Kruger A., Brodoefel H., Korovin M., Deussing J., Augustin N., Nielsen B.S., Almholt K., Bogyo M., Peters C., Reinheckel1 T.* (2006) Cancer Res., **66**(10), 5242-5250.
18. *Shehan K., Shuja S., Murnane M.* (1989) Cancer Res., **49**, 3809–3814.
19. *Mehtani S., Gong Q., Panella J., Subbiah S., Peffley D.M., Frankfater A.* (1998) J. Biol. Chem., **273**, 13236-13244.
20. *Fehrenbacher N., Jäättelä M.* (2005) Cancer Res., **65,** 2993-2995.
21. *Ostenfeld M.S., Fehrenbacher N., Hoyer-Hansen M., Thomsen C., Farkas T., Jäättelä M.* (2005) Cancer Res., **65**, 8975-8983.
22. *Bröker L.E., Huisman C., Span S.W., Rodriguez J.A., Kruyt A.E., Giaccone G.* (2004) Cancer Res., **64**, 27-30.
23. *Николин В.П., Каледин В.И., Баймак Т.Ю., Галямова М.Р., Попова Н.А., Войницкий В.Е.* (2002) Вопр. онкологии, **48**, 211-215.
24. *Barrett A.J., Kirschke H.* (1981) Methods Enzymol., **80**, 535-561.
25. *Жанаева С.Я., Короленко Т.А., Хощенко О.М., Спиридонов В.К., Николин В.П., Каледин В.И.* (2005) Бюл. экспер. биол. мед., №5, 153-156.

Поступила: 06. 06. 2007.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEASES IN THE ESTIMATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE ANTITUMORIGENIC THERAPY

S.Ya. Zhanaeva, A.I. Dyakov, T.V. Alekseenko, T.A. Korolenko

State Research Institute of Physiology, SB RAMS, ul. Akad. Timakova, 4, Novosibirsk, 630117 Russia; tel.: 334-89-56, 332-56-54; e-mail: djsja@mail.ru

The influence of the untitumor drugs, cyclophosphamide (CPA) and nitrosomethylurea (NMM) on the activity of lysosomal cysteine proteases cathepsin B and L in the tumor tissue was studied. Regression or reduction in the rate of growth of LS and RLS (drug sensitive and resistant sarcomas, respectively) during injection of CPA or NMM was accompanied by the increase in the activity of cysteine proteases cathepsin B and L in the tumor tissue. The increase of cathepsin B and L activity in the tumor tissue was correlated with the therapeutic effect of the used drugs. Data obtained suggest that cathepsin B and L activity in the tumor tissue have a prognostic significance for the effectiveness of antitumor therapy.

Key words: cysteine proteases, malignant tumors, prognostic significance.