

УДК 616-006-036.1:577.152.34

© Коллектив авторов

ПЕПТИДГИДРОЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЖЕНЩИН С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ

И.Л. ВОВЧУК, А.Е. ДИЗИК, М.Г. АНУФРИЕВ, С.С. ЧЕРНАДЧУК,
Н.В. БЕНДЕРСКАЯ, Н.В. МОТРУК

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, кафедра биохимии, ул.
Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина. Тел: (0482) 68-78-75

Эл. почта: irvov@mail.ru

Проведено сравнительное изучение протеиназной активности сыворотки крови у женщин с онкологическими заболеваниями эндометрия. У пациенток постклимактерического возраста со злокачественными опухолями эндометрия II стадии обнаружено повышение активности катепсин-D-подобных и трипсиноподобных протеиназ. Установлена обратнопропорциональная зависимость между активностью трипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови и степенью дифференциации злокачественной опухоли. При гиперплазии наибольшая активность трипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови наблюдается при аденоматозе, а наименьшая - при эндометриозе.

Ключевые слова: трипсиноподобные и катепсин-D-подобные протеиназы, рак эндометрия, аденоматоз, эндометриоз

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время рак эндометрия по частоте встречаемости занимает второе место (после рака молочной железы) среди онкогинекологических заболеваний [1]. На Украине, также как и в других странах, показатели частоты встречаемости и заболеваемости имеют тенденцию к росту. Это свидетельствует о том, что вопросы этиологии, патогенеза, ранней и дифференциальной диагностики между доброкачественными и злокачественными опухолями эндометрия до настоящего времени остаются нерешенными [2].

Одними из важнейших диагностических и прогностических критериев онкопроцесса являются энзиматические характеристики опухолевой ткани, сыворотки крови и других биологических жидкостей.

Интерес к изучению протеолитических ферментов при злокачественных новообразованиях обусловлен их разнообразным влиянием на процесс канцерогенеза [3,4]. Литературные данные свидетельствуют об изменениях активности протеиназ при злокачественном росте как в опухолевой ткани, так и в

биологических жидкостях [4-8]. Однако авторы большинства исследований не акцентируют внимание на возрастных аспектах данной онкопатологии, пик встречаемости которой приходится на 50-60 лет, что, по мнению некоторых авторов [9], связано с нарушением обмена женских половых гормонов.

В связи с этим цель настоящей работы состояла в изучении активности протеиназ в сыворотке крови женщин с доброкачественными и злокачественными опухолями эндометрия.

МЕТОДИКА. Активность протеолитических ферментов определяли в сыворотке крови 30 практически здоровых женщин разного возраста – доноров станции переливания крови, 97 женщин с доброкачественными опухолями эндометрия и 73 женщин с гистологически подтвержденной II стадией развития серозной аденокарциномы эндометрия.

Получение клинического материала.

Исследования активности протеолитических ферментов проводили до оперативного вмешательства и назначения лечения. Кровь (15мл) брали натошак из локтевой вены (без добавления гепарина) и после образования сгустка центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Сыворотку крови хранили при – 40°C не более 20 дней.

Измерение активности протеиназ.

Активность трипсиноподобных протеиназ определяли по гидролизу 2% раствора казеина (в фосфатном буфере pH 7,6) [10]; катепсин-D-подобных – по гидролизу 1% раствора гемоглобина (в ацетатном буфере pH 3,5) [11]. Удельную активность протеиназ выражали в нмоль тирозина в мин на 1 мг белка. Концентрацию белка определяли по методу Лоури [12].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. *Активность трипсиноподобных и катепсин-D-подобных протеиназ в сыворотке крови женщин постклимактерического возраста с доброкачественными или злокачественными опухолями.* Активность трипсиноподобных протеиназ вне зависимости от возраста в сыворотке крови женщин с доброкачественными опухолями эндометрия была несколько ниже, чем в сыворотке крови доноров (табл.1). Наличие злокачественной опухоли в матке характеризовалось увеличением активности трипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови по сравнению с показателями доноров: у женщин в возрасте от 51 до 60 лет – в 1,24 раза, у женщин в возрасте от 61 до 70 – в 2,0 раза. По сравнению с доброкачественными опухолями активность исследуемых протеиназ при наличии злокачественного процесса была выше в 1,4 раза у женщин первой возрастной группы и в 2,5 раза у женщин второй возрастной группы.

Следует отметить, что ввиду отсутствия доноров старше 70 лет, в третьей возрастной группе мы установили значительно более высокую (в 3,78 раза) протеиназную активность при наличии злокачественной опухоли. В то же время в этой возрастной группе показатели протеиназной активности как при наличии доброкачественного, так и злокачественного процесса, были в 3,3 и в 2,0 раза ниже, чем в других возрастных группах. Это можно объяснить, вероятнее всего, снижением скорости метаболических процессов, свойственных данному возрасту.

Таблица 1. Активность трипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови женщин с доброкачественными и злокачественными новообразованиями эндометрия

Возраст	Активность нмоль/мин на 1 мг белка		
	Без патологий	Доброкачественные опухоли	Злокачественные опухоли
51 - 60	35,65 ± 3,87	29,82 ± 3,12	41,89 ± 4,29*
61 - 70	33,44 ± 3,86	26,96 ± 2,78	66,94 ± 7,11*
71 - 80	-	9,03 ± 1,10	34,17 ± 3,07*

Примечание: *Статистически значимые различия по сравнению с доброкачественными опухолями ($p < 0,05$). В каждой исследуемой возрастной группе было 10 женщин.

Ввиду того, что трипсиноподобной активностью обладает целый ряд протеиназ сыворотки крови (в научной литературе имеются данные об увеличении активности плазмينا при возникновении злокачественных опухолей) для объяснения полученных результатов необходимо провести дополнительные исследования с использованием специфических синтетических субстратов.

Снижение протеиназной активности в сыворотке крови при наличии доброкачественной опухоли и увеличение этого показателя в случае злокачественной опухоли может свидетельствовать, с одной стороны, о неспецифичности ответной реакции организма, а с другой - об отличии протеиназ тканей доброкачественной и злокачественной опухолей.

Таблица 2. Активность катепсин-D-подобных протеиназ в сыворотке крови женщин с доброкачественными и злокачественными новообразованиями эндометрия

Возраст	нмоль/мин на 1 мг белка		
	Без патологий	Доброкачественные опухоли	Злокачественные опухоли
51 - 60	65,24 ± 6,92	40,80 ± 4,32	176,56 ± 18,32*
61 - 70	58,39 ± 6,04	52,77 ± 5,56	211,54 ± 24,46*
71 - 80	-	46,86 ± 4,92	138,95 ± 14,57*

Примечание: *Статистически значимые различия относительно здоровых женщин и женщин с доброкачественными опухолями ($p < 0,05$).

Как видно из табл.2, активность катепсин-D-подобных протеиназ в сыворотке крови женщин с доброкачественными опухолями была несколько ниже, чем у женщин, не имеющих данной патологии. Наличие злокачественной аденокарциномы характеризовалось значительным, в 3,0-4,4 раза повышением активности исследуемых протеиназ в сыворотке крови женщин с данной патологией по отношению к показателям доноров или к показателям женщин с доброкачественной опухолью. Следует отметить, что у женщин в возрасте от 61 до 70 лет активность протеиназ во всех исследованных вариантах была несколько выше, чем в других возрастных групп.

Активности протеиназ сыворотки крови при наличии доброкачественной опухоли эндометрия. В табл.3 представлены данные об активности трипсиноподобных и катепсин-D-подобных протеиназ сыворотки крови 67 женщин, у которых были диагностированы различные патологические состояния эндометрия, не относящиеся к злокачественным. Наименьшая активность трипсиноподобных протеиназ наблюдалась при наличии доброкачественной опухоли - миомы. Во всех остальных случаях патологий (за исключением

наличия фибромномы или полипов эндометрия) активность данных протеиназ была в 2,2 – 13,0 раз выше, чем при миоме. Активность катепсин-D-подобных протеиназ, в отличие от трипсиноподобных, была наивысшей в сыворотке крови женщин с миомой и наименьшей при эндометриозе.

Таблица 3. Активность трипсиноподобных и катепсин-D-подобных протеиназ в сыворотке крови женщин с различными видами доброкачественной патологии эндометрия.

Патология	n	Активность нмоль/мин на 1 мг белка	
		Трипсино-подобная	Катепсин-D-подобная
Аденоматоз	6	130,67 ± 15,52*	30,67 ± 3,42**
Миома	10	10,03 ± 1,12	36,53 ± 4,02**
Аденоматоз и миома	8	36,80 ± 4,26*	28,67 ± 3,2**
Фибромиома	7	12,66 ± 1,51	19,60 ± 2,11**
Полипоз	6	15,53 ± 1,63	23,93 ± 2,67**
Эндометриоз и миома	6	22,47 ± 2,59*	29,80 ± 3,44**
Эндометриоз	11	23,48 ± 2,87*	12,67 ± 1,56
Гиперплазия	13	24,67 ± 2,31*	22,60 ± 2,66**

Примечание: * Различия значимые по отношению к миоме; ** Различия значимые по отношению к эндометриозу (p<0,05)

На основании полученных нами данных можно предположить, что наличие достаточно высокой активности трипсиноподобных протеиназ (выше 36,00 нмоль/мин на 1 мг белка) может свидетельствовать о плохом прогнозе заболевания и, вероятно, показания протеиназной активности свыше 100,00 нмоль/мин на 1 мг белка могут свидетельствовать об активно идущих процессах трансформации клеток, которые наблюдаются при аденоматозе (*cancer in situ*). Полученные нами результаты, представленные в табл.1-3, несколько отличаются по величине, но это можно объяснить тем, что исследования проводились не с одной и той же группой больных и в первом варианте опыта разновидности доброкачественного процесса были объединены.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при наличии доброкачественной или злокачественной опухоли эндометрия у женщин в сыворотке крови наблюдается изменение активности ряда протеиназ. При доброкачественных процессах наблюдается небольшое и статистически незначимое снижение активности как трипсиноподобных, так и катепсиноподобных протеиназ, и наименьшие показатели обнаружены при некоторых видах гиперплазии. При наличии злокачественной опухоли в сыворотке крови наблюдается значительное увеличение активности этих протеиназ. Полученные нами результаты частично совпадают с результатами других исследований [4,6,9], проведенных относительно других органов. В дальнейшем мы планируем изучить активность протеиназ в биоптатах и операционном материале с использованием определения протеолитической активности специфических синтетических субстратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в Украине 1993-1998 г.г. (1999), Киев, 18с
2. Шалимов С.О., Федоренко З.П. (1997) Медицинские вести, 4, 13-16.
3. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П. (1986) Вопр. мед. химии, 32, 17-25.
4. Гешелин С.А., Вовчук С.В., Близнюк Б.Ф. (1986) Вопр. онкологии, 30, 9-18.
5. Локишина Л.А. (1991) Вопр. мед. химии, 37, 15-21.
6. Дизик А.Е. (1993) Автореф. дисс. канд. мед. наук, Одесса.
7. Бакшеев Н.С., Ильяшенко Н.А., Миляновский А.И. (1987) в кн. Злокачественные новообразования женских половых органов, М, 85-187.
8. Серебров А.И. (1957) в кн. Рак матки, Медгиз, 210-233.
9. Нагорная В.Ф. (1989) Акушерство и гинекология, №4, 11-15.
10. Kunitz V/I (1946) Biol.Chem., 164, 563-571.
11. Anson M.L., Mirsky A.E. (1932) L. Gen. Physiol., 16, 59-67.
12. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.Z., Randal L.J. (1951) J. Biol. Chem., 193, 265-275.
13. Рокитский П.Ф. (1963) Биологическая статистика, Минск, Высшая. школа.

Поступила 15.10.2000.

BLOOD SERUM PEPTIDYL HYDROLASE AKTIVITY IN WOMEN WITH TUMOR DISEASES OF ENDOMETRIUM.

I.L. VOVCHUK, A.E. DISIK, M.G. ANUFRIEV, S.S. CHERNADCHUK, N.V. BENDERSKAYA, N.V. MOTRUK

Mechnikov Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, Tel. (0482) 68-78-75
E.mail: irvov@mail.ru

Blood serum proteinase activity was studied in healthy women and in women with endometrial tumors. Significantly higher proteinase activity was found in blood serum of women with malignant tumors.

Key words: trypsin-like and cathepsin-D-like proteinases, endometrium cancer, adenomatosis, endometriosis.