

УДК 616.5-006.6:616.15-07:577.152.34

© Д.В. Прохоров, 2013.

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА И КОРРЕЛЯЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМ ПРОТЕОЛИЗА И ГЕМОСТАЗА В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕЛАНОЦИТАРНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОЖИ

Д.В. Прохоров

Кафедра кожных и венерических болезней (зав. кафедрой - проф. О.А. Притуло), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

INTEGRATED ASSESSMENT AND CORRELATION OF PROTEOLYSIS SYSTEM AND HEMOSTASIS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH MELANOCYTIC SKIN LESIONS

D.V. Prokhorov

SUMMARY

The state-proteinase inhibitor capacity and hemostasis in the serum of 31 patients with dysplastic nevi, and 34 patients with malignant melanoma of the skin. Found that the malignant process is accompanied by an increase in one-way activity of proteinases and their inhibitors. Indicators of hemostasis in patients with MS showed signs of anticoagulation in conjunction with hyperfibrinolysis. As a result of the correlation analysis revealed a relationship between indicators of proteolysis system and hemostasis. It is advisable to conduct a comprehensive evaluation of the parameters of proteolysis and hemostasis in patients with DN and MS, their changes may serve as criteria for the early diagnosis and prognosis of patients with melanocytic tumors of the skin.

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА ТА КОРЕЛЯЦІЯ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМ ПРОТЕОЛІЗУ ТА ГЕМОСТАЗУ В КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З МЕЛАНОЦИТАРНИМИ НОВОУТВОРЕННЯМИ ШКІРИ

Д.В. Прохоров

РЕЗЮМЕ

Вивчено стан протеїназ-інгібіторного потенціалу та показники гемостазу в сироватці крові 31 пацієнта з диспластичними невусами і 34 пацієнтів з меланомою шкіри. Встановлено, що злоякісний процес супроводжується односпрямованим збільшенням активності протеїназ та їх інгібіторів. Показники системи гемостазу у пацієнтів з МК свідчать про наявність ознак гіпокоагуляції в поєднанні з гіперфібринолізом. У результаті проведеного кореляційного аналізу встановлено взаємозв'язок між показниками систем протеолізу та гемостазу. Доцільно проведення Комплексний оцінки параметрів протеолізу та гемостазу у пацієнтів з ДН та МК, їх зміни можуть служити критеріями ранньої діагностики і прогнозу в осіб з меланоцитарними новоутвореннями шкіри.

Ключевые слова: меланоцитарные новообразования кожи, гемостаз, протеолиз, корреляционная взаимосвязь.

В Украине ежегодно регистрируется динамика роста онкологической патологии кожи. Тенденция к увеличению количества этого контингента пациентов в последние десятилетия, указывает на необходимость поиска новых методов диагностики и прогнозирования течения злокачественных процессов в коже [6,8,9].

Интерес исследователей к изучению протеолитической, коагуляционной и фибринолитической системы крови у лиц со злокачественными новообразованиями различных органов объясняются не только их важной физиологической ролью. Известно, что раковые клетки, в отличие от нормальных, продуцируют повышенное количество специфических протеиназ, что может влиять как на локальный, так и на системный гемостаз. С некоторыми протеолитическими ферментами системы гемостаза связывают способность опухолей к инвазии и метастазированию. Есть также данные относительно того, что циркулирующий в крови фибриноген участвует в

неопластических процессах [1,3,4,11].

При хирургическом удалении новообразований в общий кровоток из поврежденной ткани могут попадать тромбoplastиновые и фибринолитические вещества, которые способны вызвать внутрисосудистое свертывание крови, что проявляется в виде тромбозов и геморрагий [2,10].

В литературе отсутствуют данные относительно комплексного изучения компонентов систем протеолиза, свертывания крови и фибринолиза у пациентов с меланоцитарными новообразованиями кожи. Поэтому целью данной работы является изучение состояния систем протеолиза и гемостаза, их корреляционной взаимосвязи для выявления наиболее показательных нарушений при меланоцитарных новообразованиях кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 65 пациентов КРУ «Клинический онкологический диспансер»

(г. Симферополь) из них – мужчин 29 и женщин 36 в возрасте от 42 до 83 лет (средний возраст $54,16 \pm 3,02$ года) из них у 31 пациента верифицирован диагноз-диспластический невус (в количестве от 1 до 6) и у 34 меланома кожи ($T_{1-3} N_0 M_0$). Контрольную группу составили 20 здоровых людей. Материалом исследования служила сыворотка крови больных. Определение трипсиноподобной активности (ТПА) осуществляли путем измерения скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина от синтетического субстрата этилового эфира N-б-бензоил-L-аргинина (БАЭЭ). Определение эластазоподобной активности (ЭПА) проводили по гидролизу синтетического субстрата N-t-вос-аланил-p-нитрофенилового эфира (БАНФЭ). Определение антитрипсиновой активности (АТА) и кислотостабильных ингибиторов (КСИ) осуществляли по выявлению торможения расщепления трипсином БАЭЭ. Для определения кислотостабильных ингибиторов (КСИ), пробы предварительно обрабатывали для осаждения кислоталабильных белков. [5]. Концентрацию белка определяли методом Лоури [7]. Всем пациентам выполняли следующие лабораторные тесты: коагулограмма, исследовали активность антитромбина III (АТIII), определяли активированное частичное тромбoplastинное время (АЧТВ), коалиновое время (ЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), концентрацию фибриногена (ФГ) и уровень растворимых фиб-

рин-мономерных комплексов (РФМК) с использованием реактивов НПО «РЕНАМ» (г. Москва). Корреляционный анализ проводили методом парной корреляции Пирсона ($P < 0,05$). Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием методов вариационной статистики с вычислением средних величин (M) и стандартной ошибки среднего значения (m), достоверными считали показатели при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения протеиназ-ингибиторной системы сыворотки крови пациентов с диспластическими невусами (ДН) и меланомой кожи (МК) представлены в таблице 1. Установлено, что в сыворотке крови больных с МК в сравнении с пациентами с ДН имеется рост показателей протеиназ-ингибиторной системы (ЭПА на 77,02% ($p < 0,001$); ТПА на 137,23% ($p < 0,01$); КСИ на 41,89% ($p < 0,001$); АТА на 71,96% ($p < 0,01$)). У пациентов с ДН достоверных изменений изученных показателей по сравнению с контрольной группой не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о различной реакции системы протеолиза при доброкачественных и злокачественных новообразованиях кожи. Выявленные изменения компонентов протеиназ-ингибиторной системы крови в целом соответствуют развитию острофазной реакции, а активация ингибиторов является ответной реакцией организма на развитие опухоли.

Таблица 1

Изменения протеиназ-ингибиторной системы крови пациентов с ДН и МК

Группа	ЭПАмкмоль/ (мл.мин)	ТПАнмоль/ (мл.мин)	КСИ мкмоль/г	АТА, /мл
Невус, (n=31)	0,193±0,02	0,225±0,02	7,5±0,2	29,3±1,1
Меланома, (n=34)	0,35±0,02***	0,522±0,06***	11,1±0,4***	50,3±1,2***
Контрольная группа, (n=20)	0,196±0,2	0,22±0,03	7,8±0,2	29,3±1,6

Примечание: * - различия относительно контрольной группы статистически значимы ($p < 0,001$);

** - различия относительно группы пациентов с невусами статистически значимы ($p < 0,01$).

Согласно, данным представленным в таблице 2 со стороны показателей гемостаза имеют место такие изменения: уровень АЧТВ был увеличен у больных с МК (+122,7%), что однозначно является признаком гипокоагуляции, которая реализуется за счет дефицита XII фактора свертывания крови – увеличения ЧТВ у больных МК (+118%). Оценивая результаты полученные при исследовании ФГ, нами не было установлено достоверных изменений этого показателя у больных с МК. При анализе количества РФМК было установлено значительное увеличение этого показателя у больных с МК (+196,9%). Также отмечалось снижение уровня АТIII у больных с МК (-38%) и ПТИ (-43,9%). Таким образом у больных МК наблюдается гипокоагуляция, о чем

свидетельствует повышение АЧТВ и ЧТВ, при этом статистически достоверно повышается уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов, снижается уровень антитромбин III. Данные изменения говорят о феномене системной гипокоагуляции и одномоментном гиперфибринолизе.

В результате проведенного корреляционного анализа (таблицы 3 и 4) установлена взаимосвязь между показателями систем протеолиза и гемостаза. При этом количество достоверных корреляций существенно больше у пациентов с МК, чем у пациентов с ДН.

Данные корреляционного анализа убедительно свидетельствуют о взаимосвязи изученных систем, о их зависимости друг от друга.

Таблица 2

Показатели гемостаза у пациентов с ДН и МК

Контингент обследованных лиц	Показатели					
	АЧТВ, с.	ЧТВ, с.	Фибриноген, г/л	РФМК $\cdot 10^{-2}$ г/л	АТIII%	ПТИ, %
1. Пациенты с невусом (n=31) Р	39,4±3,5 0,5	63,2±4,7 0,5	3,4±0,6 0,5	3,2±0,7 0,5	100,2±1,7 0,5	100,2±1,5 0,5
2. Больные меланомой (n=34) Р	85,3±3,7	135,8±8,7	2,4±0,8	9,2±1,4	62,2±2,4	56,2±2,3
Р ₁	0,001	0,001	0,5	0,001	0,001	0,001
Р ₁	0,001	0,001	0,5	0,5	0,001	0,001
3. Контрольная группа (n=20)	38,3±3,1	62,3±4,1	3,3±0,7	3,1 ±0,8	100,2±1,4	100,1±1,2

Примечание:

Р - показатель статистической достоверности, высчитанный между результатами обследований контрольной группы и МК;

Р₁ - показатель статистической достоверности, высчитанный между результатами обследований пациентов с ДН и МК.

По-видимому, выявленные патологические процессы являются одними из наиболее весомых составляющих в возникновении и развитии злокачественного процесса при меланоцитарных новообразованиях кожи.

Таблица 3

Показатели корреляционной взаимосвязи у пациентов с ДН

Переменные	ЭПА	ТПА	КСИ	АТА	АЧТВ	ЧТВ	Фибриноген	РФМК	АТIII	ПТИ
ЭПА	-	0,156	0,029	0,046	0,209	0,178	-0,206	0,09	0,153	0,406
ТПА	0,156	-	0,235	-0,138	-0,038	0,123	-0,134	0,324	-0,293	0,071
КСИ	0,029	0,235	-	-0,134	0,356	0,356	0,22	0,334	0,087	0,476
АТА	0,046	-0,138	0,134	-	0,15	0,128	-0,054	0,015	0,123	0,098
АЧТВ	0,209	-0,038	0,356	0,15	-	0,958	0,305	0,432	0,664	0,813
ЧТВ	0,178	-0,123	0,356	0,128	0,958	-	0,285	0,409	0,64	0,868
Фибриноген	-0,206	-0,134	0,22	-0,054	0,305	0,285	-	0,033	0,282	0,304
РФМК	0,09	0,324	0,334	0,015	0,432	0,409	0,033	-	-0,385	0,396
АТIII	0,153	-0,293	0,087	0,123	0,664	0,64	0,282	-0,385	-	0,504
ПТИ	0,406	-0,071	0,476	0,098	0,813	0,868	0,304	0,396	0,504	-

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели с выраженной и сильной корреляционной взаимосвязью.

Таблица 4

Показатели корреляционной взаимосвязи у пациентов с МК

Переменные	ЭПА	ТПА	КСИ	АТА	АЧТВ	ЧТВ	Фибриноген	РФМК	АТIII	ПТИ
ЭПА	-	0,271	0,318	0,163	-0,275	-0,288	-0,44	-0,424	0,244	-0,022
ТПА	0,271	-	0,316	0,137	-0,34	-0,346	-0,364	-0,361	0,322	-0,111
КСИ	0,318	0,316	-	0,377	-0,285	-0,344	-0,451	-0,402	0,271	-0,085
АТА	0,163	0,137	0,377	-	0,062	0,011	-0,022	-0,079	0,228	0,103
АЧТВ	-0,275	-0,34	-0,285	0,062	-	0,957	0,84	0,927	0,832	0,676
ЧТВ	-0,288	-0,346	-0,344	0,011	0,957	-	0,878	0,942	0,883	0,695
Фибриноген	-0,44	-0,364	-0,451	-0,022	0,84	0,878	-	0,896	0,863	0,584
РФМК	-0,424	-0,361	-0,402	-0,079	0,927	0,942	0,896	-	0,806	0,652
АТIII	-0,244	-0,322	-0,271	0,228	0,832	0,883	0,863	0,806	-	0,745
ПТИ	-0,022	-0,111	-0,085	0,103	0,676	0,695	0,584	0,652	0,745	-

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели с выраженной и сильной корреляционной взаимосвязью.

ВЫВОДЫ

1. Развитие злокачественного опухолевого процесса в организме сопровождается изменениями в протеиназ-ингибиторном балансе сыворотки крови, что проявляется повышением активности трипсиноподобных протеиназ и увеличением уровня ингибиторов протеиназ.

2. Показатели системы гемостаза у пациентов с МК свидетельствуют о наличии признаков гипокоагуляции в сочетании с гиперфибринолизом.

3. Корреляционный анализ показал высокую степень взаимосвязи между показателями системы протеолиза и гемостаза у пациентов с ДН и МК.

4. Целесообразно проведение комплексной оценки параметров протеолиза и гемостаза у пациентов с ДН и МК, их изменения могут служить критериями ранней диагностики и прогноза у лиц с меланоцитарными новообразованиями кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.Н., Заболотный Д.И., Кизим А.И. Роль протеолиза в инвазии и метастазировании злокачественных опухолей // Журн. АМН України. - 2002. - Т.8, №2.-С. 217-237.
2. Заічко Н.В., Чернищенко Т.М., Платонова Т.М., Волков Г.Л. Вплив розчинного фібрину на проники зсідання крові та агрегати тромбоцитів // Укр. біохім. журн. - 2006. - Т.78, №3. - С. 118-123.
3. Киселев С.М., Луценко С.В., Северин С.Е., Северин Е.С. Ингибиторы опухолевого ангиогенеза // Биохимия. - 2003. - Т.68, вып.5. -С. 611-631.
4. Кондакова И.В., Климов Е.В., Савенкова О.В. и др. Матриксные металлопротеиназы 2 и 9 и их

тканевые ингибиторы как факторы метастазирования злокачественных новообразований головы и шеи // Биомедицинская химия. - 2008. - Т.54, вып.5. - С. 555-560.

5. Методи визначення активності неспецифічних протеїназ і їх інгібіторів у сироватці крові і біологічних рідинах (Методичні рекомендації) / Кубышкін А.В., Харченко В.З., Семенець П.Ф. Алиев Л.Л., Фомочкіна І.І., Анисимова Л.В. - Київ, 2010.-28с.

6. Святенко Т. В., Михайлец Н. В., Музыка Л. В. Вопросы дерматоонкологии в практике врача-дерматолога // Эстетична медицина. - 2010. - №5-6(17-18). - С. 62-65.

7. Скоупс Р. Методы очистки белков / Скоупс Р. [пер. с англ.] - М.: Мир, 1985. - 358 с.

8. Туркевич О. Ю., Сизон О. О., Коляденко К. В. Вивчення дерматоонкології-загальна потреба сьогодення // Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2009. - № 3. - с.102-103.

9. Шмыгло М. М. Распространение злокачественной меланомы на Украине // Дерматология, сексопатология, косметология. - 2000. - № 1(3). - С. 146-149.

10. Nakagava K., Tsuji H., Masuda H. et al. Plasma levels of soluble fibrin in patients with malignancy-associated disseminated intravascular coagulation // Blood Coagul. Fibrinolysis. 1994. Vol.5, №5. -P. 725-730.

11. Mignatti P., Rifkin D.B. Biology and biochemistry of proteinases in tumor invasion // Physiol. Rev. -1993. - Vol.73, №1.- P. 161-195.