

males with no effect on antioxidant system of males of both age groups. In addition, AKG-supplemented food increased resistance to heat stress but not to oxidants in both age groups and prevented the decline in locomotor activity in middle-aged males.

Keywords: amino acids, triacylglycerols, heat stress, locomotor activity.

УДК 577. 15.152: 466(043.5)

Н. Мотрук, соискатель
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, Одесса, Украина

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА В НОВООБРАЗОВАНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Исследована активность компонентов системы протеолиза нетрансформированной и опухолевой тканей молочной железы женщин разного возраста. Показано, что активность компонентов системы протеолиза существенно зависит как от возраста женщин, так и степени развития опухолевого процесса. Установлено, что активность α_1 -антитрипсина детерминирована только возрастом женщин и не зависит от степени озлокачествления новообразований. Активность катепсин-D- и катепсин-L-подобных протеиназ, матриксной металлопротеиназы-2, трипсиноподобных протеиназ и карбоксипептидазы А детерминирована прогрессией опухоли и не зависит от возраста женщин.

Ключевые слова: протеолиз, молочная железа, опухоль, возраст женщин.

Введение. Возраст является одним из основных факторов, с которым связано развитие многих заболеваний, в том числе онкологических заболеваний молочных желез. Вероятность возникновения рака молочной железы прямо пропорционально повышается с возрастом [15]. Первый пик заболеваемости приходится на репродуктивный период от 30 до 40 лет [10], а наибольшая смертность регистрируется у женщин в возрасте 40-59 лет [5]. В последнее время отмечается тенденция к увеличению заболеваемости доброкачественными новообразованиями молочной железы, которые диагностируются у каждой 4-й женщины в возрасте до 30 лет. У женщин старше 50 лет патология молочных желез выявляется в 60 % случаев [11,13].

Разнообразные метаболические изменения, возникающие в процессе образования и развития опухоли, в большинстве случаев сопровождаются изменением спектра активности протеолитических ферментов: сериновых протеиназ [17,21], катепсинов [29,24,25], металлопротеиназ [18,22], а также их эндогенных ингибиторов [27, 23]. Агрессивность клеток новообразований различного гистогенеза и способность опухолей к метастазированию характеризуется повышением активности протеаз, активность которых регулируется специфическими эндогенными ингибиторами [28, 30]. Определяющее значение для протекания реакций протеолитического расщепления имеет нарушение баланса между уровнем протеаз и их ингибиторов.

Цель работы состояла в изучении активности компонентов системы протеолиза в неизменной и опухолевой ткани молочной железы женщин разного возраста.

Материалы и методы. В ходе работы были исследованы образцы резецированной в ходе оперативного вмешательства ткани новообразований молочной железы женщин, которые не получали до операции медикаментозное лечение. Материал для исследования был предоставлен сертифицированной патоморфологической лабораторией Одесского областного онкологического диспансера. Патоморфологическая и гистологическая верификация диагнозов была проведена по требованиям ВОЗ [31] сертифицированной и лицензированной патоморфологической лабораторией Одесского областного онкологического диспансера с определением морфологического состояния и степени дифференцировки опухолевой ткани (согласно договору о совместных исследованиях).

Взятие анатомического материала для исследований проводилось медицинским учреждением с соблюдением этических и правовых норм с соблюдением этических и правовых норм: Хельсинской декларации 1964 г., Конвенции о защите прав и достоинств человека в связи с использованием достижений биологии и медицины (Конвенция о правах человека и биомедицине 1996 г.), закона Украины "О трансплантации органов и других анатомических материалов человеку" 1999 г.

Образцы тканей замораживали при -18°C непосредственно после оперативного вмешательства. Ткань молочной железы гомогенизировали в дистиллированной воде (в соотношении 1 : 10) с последующим центрифугированием при 9000 g в минуту при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 45 мин.

В супернатанте образцов инфильтративного протокового рака (ИПР) и доброкачественных новообразований молочной железы (фиброзно-кистозная мастопатия, фиброаденома, листовидная опухоль) определяли содержание белка по Лоури [20] и активность катепсин-D-подобных протеиназ по Ансону [12], катепсин-L-подобных протеиназ по Черной в модификации Вовчук [2], трипсиноподобных протеиназ по Кунитцу в модификации Веремеенко [1], альфа₁-антитрипсина по Веремеенко в модификации Левицкого [7]. Активность матриксной металлопротеиназы-2 (ММП-2) по методу Вовчук [9], карбоксипептидазы А методом Коштария [19], с детекцией свободной аминокислоты нингидриновым методом по Олешко [8]. Удельную активность ферментов выражали в микромолях или наномолях аминокислоты в минуту на мг белка, активность альфа₁-антитрипсина – в условных единицах (1 единица соответствует 1 мкг инактивированного кристаллического трипсина).

В качестве контроля были исследованы прилегающие к опухоли ткани, в которых по данным гистоморфологического исследования было подтверждено отсутствие атипичных клеток.

Статистическую обработку результатов проводили по Манну – Уитни [6].

Результаты и их обсуждение. В неизменной ткани молочной железы нами не было выявлено достоверных возрастных изменений активности катепсин-D-подобных протеиназ (табл.1).

Таблица 1. Активность компонентов системы протеолиза в нетрансформированных тканях молочной железы в разные физиолого-возрастные периоды женщин

Физиолого-возрастные периоды	Катепсин D-подобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Катепсин L-подобные протеиназы (нмоль тирозина в мин на мг белка)	Трипсино-подобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Ингибитор трипсина (у.е.)	ММП-2 (мкмоль глицина в мин на мг белка)	Карбокси-пептидаза А (мкмоль фенилаланина в мин на мг белка)
Репродуктивный период 31-40 лет (n = 12)	2,00 ± 0,19	0,27 ± 0,03	0,70 ± 0,06	4,99 ± 0,47	222,39 ± 20,43	2,30 ± 0,21
Поздний репродуктивный период 41-50 лет (n = 15)	1,26 ± 0,11↓	0,28 ± 0,03	4,66 ± 0,44↑	3,91 ± 0,36	181,61 ± 17,25	1,91 ± 0,16
Менопаузальный период 51-60 лет (n = 17)	1,46 ± 0,12	0,19 ± 0,02↓	0,45 ± 0,04↓	4,48 ± 0,42	275,03 ± 26,13	1,74 ± 0,14
Климактерический период 61-70 лет (n = 15)	1,46 ± 0,13	0,31 ± 0,03	10,51 ± 0,91↑	3,25 ± 0,28↓	333,33 ± 31,67↑	2,07 ± 0,18

Примечание: n – количество исследуемых образцов тканей; ↑, ↓ – онтогенетические различия активности компонентов системы протеолиза по отношению к репродуктивному периоду (31–40 лет); P < 0, 05.

При наличии доброкачественного процесса в молочной железе активность катепсин-D-подобных протеиназ, по сравнению с тканью без новообразований, была в 2,52 – 2,80 раза выше у женщин в возрасте старше 50 лет и снижалась у женщин после 60 лет (табл. 2). По сравнению с неизменной тканью и доброкачественными новообразованиями, наличие злокачественного процесса в ткани молочной железы характеризовалось повышением активности катепсин-D-подобных протеиназ в 4,84 – 6,59 раза (в пределах сравниваемых возрастных групп) и уменьшалась с увеличением возраста женщин (табл. 3). В тканях доброкачественных новообразований молочной железы максимальная активность фермента была установлена у женщин в возрасте 41–60 лет (табл. 2), а при злокачественном процессе – у женщин в возрасте 31–40 лет (табл. 3).

Активность катепсин-L-подобных ферментов в неизменной ткани молочной железы не изменялась у женщин репродуктивного возраста и была минимальной у женщин в возрасте 51–60 лет (табл.1). В тканях доброкачественных новообразований молочной железы активность катепсин-L-подобных протеиназ незначительно повышалась во всех возрастных группах, по сравнению с неизменной тканью молочной железы у женщин этого же возраста (табл. 2). Наличие злокачественного процесса характеризовалось незначительным повышением активности катепсин-L-подобных протеиназ во всех возрастных группах по сравнению с неизменной тканью молочной железы. По сравнению с доброкачественными новообразованиями молочной железы, при злокачественном процессе увеличение активности фермента в 1,26 – 2,05 раза было установлено у женщин в возрасте 31 – 40 и 61 – 70 лет (табл. 3).

Таблица 2. Активность компонентов системы протеолиза в тканях доброкачественных новообразований молочной железы в разные физиолого-возрастные периоды женщин

Физиолого-возрастные периоды	Катепсин D-Подобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Катепсин L-подобные протеиназы (нмоль тирозина в мин на мг белка)	Трипсино-подобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Ингибитор трипсина (у.е.)	ММП-2 (мкмоль глицина в мин на мг белка)	Карбокси-пептидаза А (мкмоль фенилаланина в мин на мг белка)
Репродуктивный период 31-40 лет (n = 22)	1,13 ± 0,09 *	0,34 ± 0,04	5,87 ± 0,56 *	3,18 ± 0,27 *	191,47 ± 18,19	2,07 ± 0,18
Поздний репродуктивный период 41-50 лет (n = 55)	3,17 ± 0,28 ↑*	0,32 ± 0,03	9,09 ± 0,86 ↑ *	2,92 ± 0,28	654,02 ± 61,28 ↑*	2,70 ± 0,23
Менопаузальный период 51-60 лет (n = 12)	4,09 ± 0,37↑ *	0,39 ± 0,04 *	3,17 ± 0,30 ↓ *	3,33 ± 0,32	109,09 ± 10,36 ↓*	2,71 ± 0,25 *
Климактерический период 61-70 лет (n = 10)	1,27 ± 0,11	0,31 ± 0,03	0,92 ± 0,08 ↓ *	5,37 ± 0,51 ↑*	150,00 ± 14,25 *	3,23 ± 0,30 ↑ *

Примечание: n – количество исследуемых образцов тканей; ↑, ↓ – онтогенетические различия активности компонентов системы протеолиза по отношению к репродуктивному периоду (31–40 лет);

P < 0, 05; * – достоверные отличия по отношению к показателям ткани молочной железы без новообразований в пределах одной возрастной группы

В нетрансформированной ткани молочной железы наименьшая активность трипсиноподобных протеиназ на фоне высокой активности α₁-антитрипсина выявлена у женщин в возрасте 51 – 60 лет (табл. 1). По сравне-

нию с неизменной тканью наличие доброкачественного процесса в молочной железе сопровождалось значительным, в 1,95 – 8,39 раза, увеличением активности трипсиноподобных протеиназ у женщин в возра-

сте 31 – 60 лет и максимальной активностью фермента у женщин в возрасте 41-50 лет (табл. 2). Следует отметить, что повышение активности трипсиноподобных протеиназ происходило на фоне снижения активности их эндогенного ингибитора α_1 -антитрипсина.

Возрастные особенности активности трипсиноподобных ферментов в тканях злокачественных новообразований молочной железы проявились в максимальной активности фермента в опухолевой ткани молочной железы у женщин в возрасте 51 – 60 лет (табл. 3). Наличие доброкачественного или злокачественного процесса в ткани молочной железы у женщин старше 60 лет характеризовалось снижением активности трипсиноподобных протеиназ на фоне высокой активности α_1 -антитрипсина.

По сравнению с женщинами репродуктивного возраста (31 – 40 лет) активность ММП-2 в неизменной ткани молочной железы была выше у женщин в возрасте 61 – 70 лет и ниже у женщин в возрасте 41 – 50 лет (табл. 1). По сравнению с неизменной тканью молоч-

ной железы наличие доброкачественного процесса, наоборот, характеризовалось максимальным увеличением активности ММП-2 у женщин в возрасте 41 – 50 лет и снижением активности фермента у женщин старше 60 лет (табл. 2). Возрастные особенности активности ММП-2 при злокачественном процессе в молочной железе проявились в максимальной активности фермента у женщин в возрасте 31 – 40 лет и 51 – 60 лет (табл. 3). По сравнению с активностью ММП-2 в неизменной ткани молочной железы, в ткани ИПР активность фермента была выше у женщин того же возраста и достигала максимума у женщин в возрасте 31 – 40 лет и 51 – 60 лет (табл. 3). Полученные результаты не совпадают с исследованиями активности ММП-2 в опухолях в яичников [4], что свидетельствует о специфичности онтогенетических изменений активности ММП-2 в новообразований молочной железы.

Таблица 3. Активность компонентов системы протеолиза в тканях злокачественных новообразований молочной железы в разные физиолого-возрастные периоды женщин

Физиолого-возрастные периоды	Катепсин D-подобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Катепсин L-Подобные протеиназы (нмоль тирозина в мин на мг белка)	Трипсиноподобные протеиназы (мкмоль тирозина в мин на мг белка)	Ингибитор трипсина (у.е.)	ММП-2 (мкмоль глицина в мин на мг белка)	Карбокси-пептидаза А (мкмоль фенилаланина в мин на мг белка)
Репродуктивный период 31-40 лет (n = 9)	13,17 ± 1,20 *	0,50 ± 0,06 *	1,24 ± 0,10 *	2,68 ± 0,25 *	690,99 ± 65,64 *	2,83 ± 2,67
Поздний репродуктивный период 41-50 лет (n = 14)	13,12 ± 1,20 *	0,36 ± 0,03	4,76 ± 0,43 ↑	1,23 ± 0,14 ↓ *	488,66 ± 46,42 ↓ *	4,06 ± 0,38 ↓ *
Менопаузальный период 51-60 лет (n = 38)	7,06 ± 0,67 ↓ *	0,38 ± 0,03 ↓ *	6,58 ± 0,63 ↑ *	1,90 ± 0,18 *	679,54 ± 64,56 *	2,57 ± 0,23 *
Климактерический период 61-70 лет (n = 15)	2,27 ± 0,20 ↓ *	0,41 ± 0,03 ↓	2,83 ± 0,26 ↑ *	4,71 ± 0,44 ↑	499,43 ± 47,45 ↓ *	2,95 ± 0,26

Примечание: n – количество исследуемых образцов тканей; ↑, ↓ – онтогенетические различия активности компонентов системы протеолиза по отношению к репродуктивному периоду (31-40 лет);

P < 0, 05; * – достоверные изменения по отношению к показателям ткани молочной железы без новообразований в пределах одной возрастной группы

Активность карбоксипептидазы А в ткани молочной железы без новообразований незначительно снижалась (табл. 1), а в доброкачественных новообразованиях – повышалась по мере увеличения возраста женщин (табл. 2). Достоверное повышение активности карбоксипептидазы А в тканях злокачественных новообразований в 2,13 раза было выявлено только у женщин в возрасте 41 – 50 лет (табл. 3), что совпадает с исследованиями активности карбоксипептидазы А в опухолях яичника [2].

Установленное нами повышение активности исследованных протеолитических ферментов может быть обусловлено различными метаболическими нарушениями в организме женщин, происходящими при опухолеобразовании, влиянием гормонов [14], факторов роста [27], цитокинов [16] и др. Эти нарушения могут приводить к снижению синтеза ингибиторов, в следствие чего повышается активность регулируемых ими ферментов. Также возможно, что количество синтезируемого ингибитора является недостаточным для подавления избыточной активации протеолиза или ингибитор, синтезируемый тканью новообразований является не специфичным по отношению к ферментам опухоли.

Выявленные нами изменения во взаимосвязи между компонентами системы протеолиза в доброкачественных и злокачественных новообразованиях молочной железы женщин различных возрастных групп позволили нам предположить наличие причинно-следственных связей между озлокачествлением ткани молочной железы и возрастом женщин. Расчет влияния этих факторов проводили с помощью двух факторного дисперсионного анализа с повторением. В качестве независимых переменных были определены: А – возраст женщин, который определяли по анамнезу, В – прогрессию опухоли. За нулевую точку отсчета принимали активность компонентов системы протеолиза в ткани молочной железы без новообразований, изменения активности компонентов системы протеолиза при доброкачественных и злокачественных новообразованиях рассматривали как последующие этапы озлокачествления опухоли. Зависимой переменной была активность компонентов системы протеолиза ткани молочной железы.

В результате проведенных исследований были установлены коэффициенты детерминации активности компонентов протеолитической системы от независимых факторов. Изменение активности катепсин-D-подобных протеиназ ткани молочной железы было на

21,3 % детерминировано возрастом женщин и на 48 % озлокачествлением новообразований, а взаимодействие независимых факторов обеспечивало 30,6 % активности фермента.

Изменение активности катепсин-L-подобных ферментов на 62,4 % было детерминировано фактором озлокачествления опухоли. Влияние возраста женщин и взаимодействие независимых факторов на активность данного фермента составили 12,2 % и 24 %, соответственно.

Влияние возраста на активность трипсиноподобных протеиназ было значительно ниже F-критерия, поэтому влияние независимой переменной – возраста женщин на активность этого фермента было недостоверным. По данным дисперсионного анализа активность трипсиноподобных ферментов существенно зависела от суммарного влияния независимых факторов – 73,3 % и была мало детерминирована возрастом женщин – 26,4 %.

Влияние фактора возраста женщин на активность эндогенного ингибитора трипсина было наибольшим – 41,6 %. Степень озлокачествления новообразования оказывала меньше влияние – 26,8 %, а сочетанное влияние обоих факторов составило 31,0 %.

Достоверно значимого влияния возраста на активность ММП-2 не установлено. Коэффициент детерминации озлокачествления новообразования составил 52,4 %, а взаимное влияние факторов – 41,8 %.

Активность карбоксипептидазы А в меньшей степени (12,5 %) зависела от возраста женщин. Более значительное влияние на активность фермента оказывало озлокачествление новообразования – 50 %, а коэффициент детерминации сочетанного влияния факторов составил 36,0 %.

Анализ полученных результатов позволил выделить 2 группы ферментов, активность которых детерминирована либо возрастом женщины, либо фактором озлокачествления.

К первой группе принадлежит ингибитор трипсина, активность которого детерминирована только возрастом женщин и не зависит от степени озлокачествления новообразований.

Вторую группу составили ферменты: катепсин-D- и катепсин-L-подобные протеиназы, матриксная металлопротеиназа-2, трипсиноподобные протеиназы и карбоксипептидаза А, активность которых детерминирована степенью озлокачествления и не зависит от возраста женщин.

Выводы:

1. В нетрансформированной ткани молочной железы максимальная активность катепсин-D-подобных протеаз и карбоксипептидазы А установлена у женщин в репродуктивный возраст (31 – 40 лет), а трипсиноподобных протеиназ, катепсин-L-подобных протеиназ и ММП-2 – у женщин в климактерическом возрасте (61 – 70 лет).

2. В ткани доброкачественных новообразований молочной железы у женщин в возрасте 41 – 50 лет установлена максимальная активность трипсиноподобных протеиназ и ММП-2, на фоне низкого содержания альфа-1-антитрипсина, а у женщин в возрасте 51 – 60 лет – максимальная активность катепсин-D-подобных и катепсин-L-подобных протеиназ. У женщин в климактерическом возрасте (61 – 70 лет) установлена максимальная активность карбоксипептидазы А и альфа-1-антитрипсина на фоне минимальной активности трипсиноподобных протеиназ.

3. В ткани злокачественных новообразований молочной железы у женщин в возрасте 31 – 40 лет установлена максимальная активность катепсин-D-подобных, катепсин-L-подобных протеиназ и ММП-2, а у женщин в

возрасте 41–50 – максимальная активность катепсин-D-подобных на фоне низкого содержания альфа-1-антитрипсина. У женщин в менопаузальном возрасте (51–60 лет) установлена максимальная активность трипсиноподобных протеиназ, а у женщин в возрасте 61–70 лет установлена максимальное содержание альфа-1-антитрипсина.

4. По результатам дисперсионного анализа активность альфа-1-антитрипсина детерминирована возрастом женщин и не зависит от степени озлокачествления клеток новообразований.

Список использованных источников

1. Веремеенко К.Н. α_1 -ингибитор протеиназ и его исследование в клинике / К.Н. Веремеенко // Клиническая медицина, 1985. – Т. 63, № 2. – С. 21 – 27.
2. Вовчук И.Л. Активность тканевых катепсин- L-подобных протеиназ у женщин с онкопатологией тела матки / И.Л. Вовчук, С.С. Чернадчук // Укр. Биохим. Журн., 2004. – Т. 76, № 2. – С. 56 – 60.
3. Вовчук И.Л. Активность карбоксипептидазы А в новообразованных яичника / И.Л. Вовчук // Вісник ОНУ, 2005. – Т. 10, вип. 5. – С. 36-41.
4. Вовчук И.Л. Активность металлопротеиназы (ММП-2) в тканях новообразований яичников женщин / И.Л. Вовчук, С.А. Петров // Экспериментальна та клінічна фізіологія і біохімія, 2007. – № 2. – С. 92–97.
5. Заридзе Д.Г. Эпидемиология рака молочной железы / Д.Г. Заридзе, Т.Х. Мень // Рос. онкол. журн., 2000. – № 5. – С. 5–14.
6. Лалач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel : 2-е изд., перераб. и доп. / С.Н. Лалач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К. : МОРИОН, 2001. – 408 с.
7. Левицкий А.П. Методы определения ингибиторов трипсина. Биохимические методы исследования селекционного материала / А.П. Левицкий // Сб. науч. тр. – Одесса : ВСГИ, 1979. – Вып. XV. – С. 68–72.
8. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах / Г.И. Олешко, Т.И. Ярыгина, Е.В. Зорина, М.Д. Решетникова // Фармация, 2011. – № 3. – С. 14–17.
9. Патент № 46633 Україна, МПК (2009), C12N 9/50, C12N 9/64. Спосіб визначення активності матриксової металлопротеїнази-2 / І.Л. Вовчук; заявник та патентодержатель Вовчук І.Л. – № у 2009 08087; заявл. 31.07.2009; опубл. 25.12.2009. Бюл. № 24.
10. Сидоренко Л.Н. Молочная железа. Как уберечь себя от рака. / Л.Н. Сидоренко // СПб : Фолио пресс, 1998. – 704 с.
11. Тагиева Т.Т. Доброкачественные заболевания молочных желез у женщин позднего репродуктивного возраста: возможности трансдермальной гестагенной терапии / Т.Т. Тагиева // Гинекология, 2005. – Т. 4, № 7. – С. 284–289.
12. Anson M.L. The estimation of pepsin with hemoglobin / M.L. Anson, A.E. Mirsky // J. Gen. Physiol., 1932. – Vol. 16, № 1. – P. 59–67.
13. Benign breast lesions in Eastern Nigeria / A. Anyikam, M.A. Nzeqwu, B.C. Ozumba et al. // Saudi Med. J., 2008. – Vol. 29, № 2. P. 241–244.
14. Regulation of matrix metalloproteinase-9 / gelatinase B expression and activation by ovarian steroids and LEFTY-A / endometrial bleeding-associated factor in the human endometrium / P.B. Cornet, C. Galant, Y. Eekhout et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab., 2005. – Vol. 90, № 2. – P. 1001–1011.
15. Gabriel C.A. Breast cancer in young women / C.A. Gabriel, S.M. Domchek // Breast Cancer Research., 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 212–222.
16. Expression of cathepsins B and L in human lung epithelial cells is regulated by cytokines / A. Gerber, T. Welte, S. Ansorge et al. // Adv. Exp. Med. Biol., 2000. – Vol. 477. – P. 287 – 292.
17. Differential expression of trypsinogen and tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) in bladder cancer / K. Hotakainen, A. Bjartell, A. Sankila et al. // Int. J. Oncol., 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 95 – 101.
18. Expression of matrix metalloproteinases-9, 2, 7 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1, 2, 3 mRNA in ovarian tumors and their clinical significance / X.X. Hu, L. Li, D.R. Li et al. // Ai Zheng., 2004. – Vol. 23, № 10. – P. 1194 – 1198.
19. Khoshtariya D.E. Substrate specificity of solvent viscosity effects in carboxypeptidase A catalyzed peptide hydrolysis / D.E. Khoshtariya, J.M. Hammerstad-Pedersen, J. Ulstrup // Biochimica et Biophysica Acta (BBA), 1991. – V. 1076, (3). – P. 359–363.
20. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, D.E. Khoshtariya, J.M. Hammerstad-Pedersen, J. Ulstrup // J. Biol. Chem., 1951. – Vol. 193. – P. 265 – 275.
21. Human tissue kallikrein 5 is a member of a proteolytic cascade pathway involved in seminal clot liquefaction and potentially in prostate cancer progression / I.P. Michael, G. Pampalakis, S.D. Mikolajczyk et al. // J. Biol. Chem., 2006. – Vol. 281, № 18. – P. 12743 – 12750.
22. Expression of metalloproteinase-2, metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in transitional cell carcinoma of upper urinary tract: correlation with tumor stage and survival / Y. Miyata, S. Kanda, K. Nomata et al. // Urology, 2004. – Vol. 63, № 3. – P. 602 – 608.

23. Nishino N. The significance of determination of urinary trypsin inhibitor related antigen in tissues with cancer of the digestive organs / N. Nishino // Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi., 1990. – Vol. 25, № 3. – P. 603 – 612.

24. Clinical significance of cathepsin D concentration in tumor cytosol of primary breast cancer / J. Rodriguez, J. Vazquez, M. D. Corte et al. // Int. J. Biol. Markers, 2005. – Vol. 20, № 2. – P. 103 – 111.

25. Cathepsins B and L and their inhibitors stefin B and cystatin C as markers for malignant progression of benign meningiomas / M. Trinkaus, A. Vranic, Vol. V. Dolenc et al. // Int. J. Biol. Markers, 2005. – Vol. 20, № 1. – P. 50 – 59.

26. Trolle W. Protease inhibitors as anticarcinogens / W. Trolle, K. Frenkel, R. Wiesner // J. Nat. Cancer Inst., 1984. – 73, № 8. – P. 1245–1250.

27. Nicotine induces cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor receptor-2 in association with tumor-associated invasion and angiogenesis in gastric cancer / V.Y. Shin, W.K. Wu, K.M. Chu et al. // Mol. Cancer Res., 2005. – Vol. 3, № 11. – P. 607 – 615.

28. Co-expression of trypsin and tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) in colorectal adenocarcinomas / S. Solakidi, D.G. Tiniakos, K. Petraki et al. // Histol. Histopathol., 2003. – Vol. 18, № 4. – P. 1181 – 1188.

29. Expression of cathepsins B, H, and L and their inhibitors as markers of transitional cell carcinoma of the bladder / A. Staack, D. Tolic, G. Kristiansen et al. // Urology, 2004. – Vol. 63, № 6. – P. 1089 – 1094.

30. High tissue expression of tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) associates with a more favourable prognosis in gastric cancer / J.P. Wiksten, J. Lundin, S. Nordling et al. // Histopathology, 2005. – Vol. 46, № 4. – P. 380 – 388.

26. World Health Organization Classification of Tumors / F.A. Tavassoli, P. Devilee et al. // Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. – Lyon: IARC Press, 2003. – 432 p.

References

1. Veremeenko K.N. α 1-ингибитор трипсина и его исследование в клинике / Veremeenko K.N. // Klin. medicina. – 1985. – Т. 63, № 2. – С. 21 – 27.

2. Vovchuk I.L. Aktivnost' tkanevnykh katepsin- L-podobnykh proteinaz u zhenshchin s onkopatologijey tela matki / Vovchuk I.L., Chernadchuk S.S. // Ukr. Biohim. Zhurn.- 2004. – Т. 76, № 2. – С. 56 – 60.

3. Vovchuk I.L. Aktivnost' karboksipeptidazy A v novoutvorenykh jachnuk / Vovchuk I.L. // Visnik ONU. – 2005. – Т. 10, вип. 5. – С. 36-41.

4. Vovchuk I.L. Aktivnost' metalloproteinazy (MMP-2) v tkanjah novoobrazovaniy jachnikov zhenshchin / Vovchuk I.L., Petrov S.A. // Eksperimental'na ta klinichna biologiya ta biohimiya. – 2007. – № 2. – С. 92–97.

4. Zaridze D.G. J Epidemiologiya raka molochnoj zhelezy / Zaridze D.G., Men' T.H. // Ros. onkol. zhurnal. – 2000. – № 5. – С. 5 – 14.

5. Lapach S.N. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniem Ehchel' 2-e izd., pererab. i dop. / Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. // K. : MORION, 2001. – 408 s.

6. Levickij A.P. Metody opredeleniya inhibitorov tripsina. Biohimicheskie metody issledovaniya selekcionnogo materiala / Levickij A.P. // Sbornik nauchnykh trudov. – Odessa: VSGI, 1979. – Vyp. HV. – С. 68 – 72.

7. Oleshko G.I. Razrabotka unificirovannoy metodiki kolichestvennogo opredeleniya summy svobodnykh aminokislot v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i jekstrakcionnykh preparatah / Oleshko G.I., Jarygina T.I., Zorina E.V., Reshetnikova M.D. // Farmacija. – 2011. – № 3. – С. 14 – 17.

8. Pat. № 46633 Ukraina, MPK (2009), C12N 9/50, C12N 9/64. Sposob viznachenniya aktivnosti matryksnoy metalloproteinazy-2 / Vovchuk L.; zajavnik ta patentoderzhatel' Vovchuk L. – № 2009 08087; zajavl. 31.07.2009; opubl. 25.12.2009

9. Sidorenko L.N. Molochnaja zheleza. Kak uberech' sebja ot raka. / Sidorenko L.N. // SPb: Folio press, 1998. – 704 s.

10. Tagieva T.T. Dobrokachestvennyye zabolevaniya molochnykh zhelez u zhenshchin pozdnego reprodukivnogo vozrasta: vozmozhnosti transdermal'noj gestagennoj terapii / Tagieva T.T. // Ginekologiya. – 2005. – Т. 4, № 7. – С. 284 – 289.

11. Anson M.L. The estimation of pepsin with hemoglobin / Anson M.L., Mirsky A.E. // J. Gen. Physiol. – 1932. – Vol. 16, № 1. – P. 59 – 67.

12. Anyikam A. Benign breast lesions in Eastern Nigeria / Anyikam A., Nzeqwu M.A., Ozumba B.C. et al. // Saudi Med. J. – 2008. – Vol. 29, № 2. P. 241 – 244.

13. Cornet P.B. Regulation of matrix metalloproteinase-9 / gelatinase B expression and activation by ovarian steroids and LEFTY-A / endometrial bleeding-associated factor in the human endometrium / Cornet P.B., Galant C., Eeckhout Y. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, № 2. – P. 1001 – 1011.

14. Gabriel C.A. Breast cancer in young women / Gabriel C.A., Domchek S.M. // Breast Cancer Research. – 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 212 – 222.

15. Gerber A. Expression of cathepsins B and L in human lung epithelial cells is regulated by cytokines / Gerber A., Welte T., Ansohn S. et al. // Adv. Exp. Med. Biol. – 2000. – Vol. 477. – P. 287 – 292.

16. Hotakainen K. Differential expression of trypsinogen and tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) in bladder cancer / Hotakainen K., Bjartell A., Sankila A. et al. // Int. J. Oncol. – 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 95 – 101.

17. Hu X.X. Expression of matrix metalloproteinases-9, 2, 7 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1, 2, 3 mRNA in ovarian tumors and their clinical significance / Hu X.X., Li L., Li D.R. et al. // Ai Zheng. – 2004. – Vol. 23, № 10. – P. 1194 – 1198.

18. Khoshtariya D.E. Substrate specificity of solvent viscosity effects in carboxypeptidase A catalyzed peptide hydrolysis / Khoshtariya D.E., Hammerstad-Pedersen J.M., Ulstrup J. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). – 1991. – V. 1076, (3). – P. 359-363.

19. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Khoshtariya D.E., Hammerstad-Pedersen J.M., Ulstrup J. // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265 – 275.

20. Michael I.P. Human tissue kallikrein 5 is a member of a proteolytic cascade pathway involved in seminal clot liquefaction and potentially in prostate cancer progression / Michael I.P., Pampalakis G., Mikolajczyk S.D. et al. // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281, № 18. – P. 12743 – 12750.

21. Miyata Y. Expression of metalloproteinase-2, metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in transitional cell carcinoma of upper urinary tract: correlation with tumor stage and survival / Miyata Y., Kanda S., Nomata K. et al. // Urology. – 2004. – Vol. 63, № 3. – P. 602 – 608.

22. Nishino N. The significance of determination of urinary trypsin inhibitor related antigen in tissues with cancer of the digestive organs / Nishino N. // Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi. – 1990. – Vol. 25, № 3. – P. 603 – 612.

23. Rodriguez J. Clinical significance of cathepsin D concentration in tumor cytosol of primary breast cancer / Rodriguez J., Vazquez J., Corte M. D. et al. // Int. J. Biol. Markers. – 2005. – Vol. 20, № 2. – P. 103 – 111.

24. Trinkaus M. Cathepsins B and L and their inhibitors stefin B and cystatin C as markers for malignant progression of benign meningiomas / Trinkaus M., Vranic A., Dolenc Vol. V. et al. // Int. J. Biol. Markers. – 2005. – Vol. 20, № 1. – P. 50 – 59.

25. Trolle W. Protease inhibitors as anticarcinogens / Trolle W., Frenkel K., Wiesner R. // J. Nat. Cancer Inst. – 1984. – 73, № 8. – P. 1245–1250.

26. Shin V. Y. Nicotine induces cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor receptor-2 in association with tumor-associated invasion and angiogenesis in gastric cancer / Shin V. Y., Wu W. K., Chu K. M. et al. // Mol. Cancer Res. – 2005. – Vol. 3, № 11. – P. 607 – 615.

27. Solakidi S. Co-expression of trypsin and tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) in colorectal adenocarcinomas / Solakidi S., Tiniakos D.G., Petraki K. et al. // Histol. Histopathol. – 2003. – Vol. 18, № 4. – P. 1181 – 1188.

28. Staack A. Expression of cathepsins B, H, and L and their inhibitors as markers of transitional cell carcinoma of the bladder / Staack A., Tolic D., Kristiansen G. et al. // Urology. – 2004. – Vol. 63, № 6. – P. 1089 – 1094.

29. Wiksten J.P. High tissue expression of tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) associates with a more favourable prognosis in gastric cancer / Wiksten J.P., Lundin J., Nordling S. et al. // Histopathology. – 2005. – Vol. 46, № 4. – P. 380 – 388.

30. World Health Organization Classification of Tumors / F.A. Tavassoli, P. Devilee et al. // Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. – Lyon: IARC Press, 2003. – 432 p.

Поступила в редакцию 13.03.17

H. Мотрук, пошукач

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ КОМПОНЕНТІВ СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ В НОВОУТВОРЕННЯХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Досліджено активність компонентів системи протеолізу в нетрансформованій та пухлинній тканинах молочної залози жінок різного віку. Показано, що активність компонентів системи протеолізу тканини молочної залози суттєво залежить як від віку жінок, так і розвитку пухлинного процесу. За результатами дисперсійного аналізу встановлено, що активність α -антитрипсину детермінована тільки віком жінок і не залежить від ступеня злоякісності новоутворення. Активність катепсину-D – і катепсину-L-подібних протеїназ, матриксної металлопротеїнази-2, трипсиноподібних протеїназ та карбосилептидази А детермінована розвитком онкопроцесу і не залежить від віку жінок.

Ключові слова: протеоліз, молочна залоза, пухлина, вік жінок.

H. Motruk, applicant,

Odessa National Mechnikov University, Odessa, Ukraine

AGE CHARACTERISTICS OF ACTIVITY SOME COMPONENTS OF PROTEOLYSIS IN BREAST TISSUES

The activity of proteolytic enzymes and their inhibitors in breast samples of women of different age was investigated. It was shown that the activity of some components of the proteolytic system in malignant and nonmalignant breast tissues is substantially depend on the age of women and the development of tumor. Activity of inhibitor of trypsin was determined only by age of women and did not depend on the degree of