

УДК 577.156:577.15.072

Г. П. ЛАБУНЕЦ¹, соискатель;

И. Л. ВОВЧУК¹, к.б.н., доцент;

Н. А. ОРЕЛ², зав. онкологическим отделением ОПАБ;

В. А. НОГИН¹, магистр

¹Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра биохимии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина. Тел: (0482)687875, e-mail: irvov@mail.ru;

²Одесский областной онкологический диспансер, лаборатория патоморфологии, ул. Неждановой, 32, Одесса, 65055, Украина. Тел.: (0482) 23-43-87

АКТИВНОСТЬ КАТЕПСИНА Н В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Исследована активность катепсина Н в образцах опухоли и пограничной ткани молочной железы. В опухолях установлено повышение содержания белка. Максимальное увеличение удельной активности катепсина Н в опухоли установлено у женщин в возрасте 21–30 лет.

Ключевые слова: катепсин Н, протеолиз, опухоль, молочная железа

Катепсин Н (ЕС 3.4.22.16) – цистеиновая лизосомальная протеиназа, которая принимает участие в регуляции внутриклеточного метаболизма, в посттрансляционной модификации белков, в клеточной дифференцировке, в процессах роста и старения, в активации и инактивации пептидных гормонов и нейропептидов, в процессе иммунного ответа [1]. Катепсин Н обладает как протеиназной, так и экзопептидазной активностью [6]. Высокая активность катепсина Н установлена в опухолях: глиобластоме, анапластической астроцитоме, колоректальной карциноме [10], в опухолях головы и шеи [4, 9].

Повышенный уровень активности фермента был обнаружен в плазме крови пациентов с раком легких, меланомой [1]. Роль катепсина Н в неоплазии человека изучена еще недостаточно. С помощью иммуногистохимических исследований было показано, что катепсин Н принимает участие в деструкции компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны, тем самым способствуя пролиферации и метастазированию опухолевых клеток [6, 7, 8]. К сожалению, проблема прогностического значения определения активности катепсина Н как в сыворотке, так и в опухолевой ткани, в современной научной литературе освещена недостаточно.

Цель исследования состояла в изучении активности катепсина Н в опухолевых и граничащих с ней тканях молочной железы.

Материалы и методы

В ходе работы были исследованы: 1) 76 образцов молочной железы без новообразований и 2) 87 образцов с новообразованиями молочной железы. Образцы для исследования были предоставлены сертифицированной патоморфологической лабораторией Одесского областного онкологического диспансера. Взятие гистологических материалов для диагностических исследований, соблюдение этических и правовых норм обеспечивалось медицинским учреждением, согласно договору о совместных исследованиях. Морфологическое состояние измененных тканей,

обширность и глубина онкопроцесса с учетом дифференцировки и пролиферации опухолевых клеток были верифицированы согласно международной классификации ВОЗ [2]. Для изучения возрастного критерия онкологических заболеваний молочной железы были исследованы образцы молочной железы без новообразований (n) и образцы молочной железы с новообразованиями (n_1) у женщин в возрасте: 21–30 лет ($n=5$, $n_1=5$), 31–40 лет ($n=5$, $n_1=5$), 41–50 лет ($n=16$, $n_1=21$), 51–60 лет ($n=18$, $n_1=25$), 61–70 лет ($n=23$, $n_1=20$), 71–80 лет ($n=11$, $n_1=10$). Выбор именно этих возрастных групп был основан на статистических данных онкозаболеваемости женщин стран СНГ [2].

Образцы тканей замораживали при $-18\text{ }^\circ\text{C}$ непосредственно после взятия их при оперативном вмешательстве. Образцы гомогенизировали с 0,9 %-м раствором NaCl (в соотношении 1 : 10) и центрифугировали при 9000 г в мин (при $+4\text{ }^\circ\text{C}$) в течение 30 мин. В супернатанте определяли содержание белка по биуретовому методу и активность катепсина Н по модифицированному методу Бредшоу [5]. Метод определения активности фермента основан на спектрофотометрическом определении продуктов гидролиза белкового субстрата (окситоцина) при длине волны 570 нм. Активность фермента выражали в мкмоль лейцина, образующегося в процессе гидролиза окситоцина, на мг белка в мин при $37\text{ }^\circ\text{C}$. Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с t-критерием Стьюдента [3]. За статистически достоверное различие между образцами пограничной ткани и различными вариантами опыта принимался уровень достоверности более 95 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Анализ содержания белка показал, что во всех возрастных группах содержание белка в образцах опухолевых тканей в 1,3–1,7 раза превышало содержание белка в образцах тканей, пограничных с опухолями (рис. 1).

В опухолевой ткани молочной железы максимальное содержание белка было у женщин в возрасте от 41 до 60 лет (рис. 1).

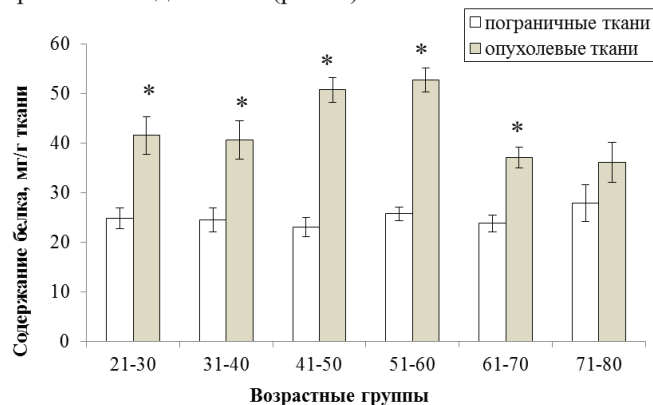


Рис. 1. Содержание белка в пограничных и опухолевых тканях молочной железы

Примечание: 21–30 лет (пограничная ткань ($n=5$); опухолевая ткань ($n=5$); 31–40 лет (пограничная ткань ($n=5$); опухолевая ткань ($n=9$); 41–50 лет (пограничная ткань ($n=16$); опухолевая ткань ($n=21$); 51–60 лет (пограничная ткань ($n=18$); опухолевая ткань ($n=25$); 61–70 лет (пограничная ткань ($n=23$); опухолевая ткань ($n=20$); 71–80 лет (пограничная ткань ($n=11$); опухолевая ткань ($n=10$). * – различия с пограничной тканью достоверны ($p < 0,05$).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что относительная активность катепсина Н повышена в образцах опухолевых тканей молочной железы вне зависимости от возраста женщин. В ткани опухоли во всех возрастных группах женщин (рис. 2) относительная активность катепсина Н была повышена в среднем в 2,14 раза, по сравнению с тканью, граничащей с опухолью молочной железы. Однако максимальное повышение активности протеиназы в образцах опухолевой ткани было установлено у женщин в возрасте 21–30 и 41–50 лет.

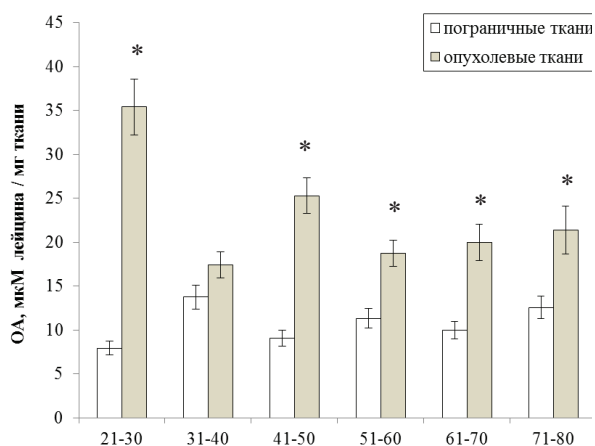


Рис. 2. Относительная активность катепсина Н в пограничных и опухолевых тканях молочной железы.

Примечание то же, что на рис. 1

Установлено, что удельная активность катепсина Н изменялась в зависимости от возраста женщин (рис. 3).

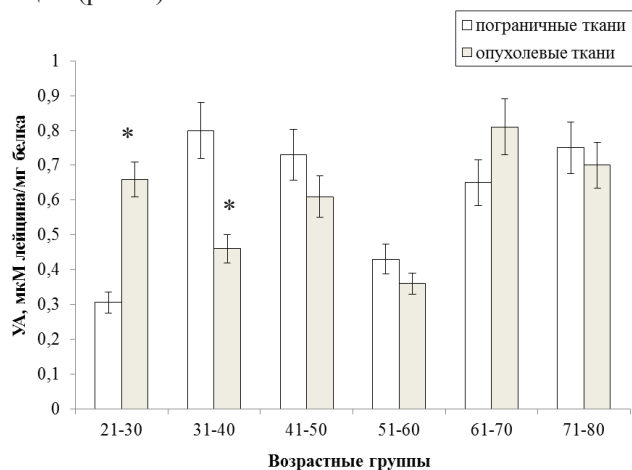


Рис. 3. Удельная активность катепсина Н в пограничных и опухолевых тканях молочной железы

Примечание то же, что на рис. 1

В возрастных группах 31–60 лет и 71–80 лет удельная активность фермента в образцах тканей, которые граничили с опухолью, была, в среднем, в 1,27 раза выше по сравнению с образцами опухолевой ткани, что совпадает с результатами других исследователей [11]. В возрастных группах 21–30 и 61–70 лет удельная активность фермента в опухолевой ткани была в 1,2–1,54 раза выше, чем в ткани, которая граничила с опухолью.

Выводы

1. У женщин в возрасте 21–70 лет с опухолевым процессом в молочной железе, содержание белка в опухоли в 1,30–1,73 раза выше, чем в ткани, пограничной с опухолью.
2. Наличие опухолевого процесса в молочной железе характеризуется увеличением относительной активности катепсина Н у женщин в возрасте 21–30 и более 40 лет.
3. Установлена возрастная динамика изменения удельной активности катепсина Н. В неизменной ткани молочной железы повышение удельной активности фермента установлено у женщин в возрасте 31–50 и 61–80 лет. В опухолевой ткани молочной железы удельная активность фермента увеличена у женщин в возрасте 21–30 лет.

Список используемой литературы

1. Васильева О. С. Изучение механизма аутокаталитической активации прокатепсина Н *in vitro* / О. С. Васильева, В. Ю. Серебров, Б. Турк, В. Турк // Исследовано в России. – 2002. – С. 1092–1102.
2. Всемирная Организация Здравоохранения / Материалы ежегодных отчетов. Санкт-Петербург. 1981. – 286 с.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морин, 2000. – 320 с.
4. Потеряева О. Н. Иммуноферментный анализ цистатина С и его роль в динамике развития и лечения опухоли / О. Н. Потеряева, О. В. Фаламеева, В. И. Каледин и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2001. – № 1. – С. 34–37.
5. Bradshaw R. S. The amino acid sequence of bovine carboxypeptidase A / Bradshaw R. S., Ericsson L. H., Walsh K. A. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1969. – Vol. 63, № 4. – P. 1389–1394.
6. Chornaya V. Some physicochemical properties of cathepsin H from human meningioma / V. Chornaya, O. Lyannaya // Exp Oncol. – 2004. – Vol. 26, № 4. – P. 278–281.
7. Friedrich B. Cathepsins B, H, L and cysteine protease inhibitors in malignant prostate cell lines, primary cultured prostatic cells and prostatic tissue / Friedrich B., Yung K., Lein M., Turk I., Rudolph B., Hampel G., Schnorr D., Loening S. A. // Eur J Cancer. – 1999. – Vol. 35. – P. 138–144.
8. Kageshita T. Biochemical and immunohistochemical analysis of cathepsins B, H, L and D in human melanocytic tumors / Kageshita T., Yoshii A., Kimura T., Maruo K., Ono T., Himeno M., Nishimura Y. // Arch Dermatol Res. – 1995. – Vol. 87. – P. 266–272.
9. Kos J. Cathepsins and cystatins in extracellular fluids – useful biological markers in cancer / J. Kos, A. Schweiger // Radiol Oncol. – 2002. – Vol. 36. – P. 176–179.
10. Sivaparvathi M. Expression and the role of cathepsin H in human glioma progression and invasion / Sivaparvathi M., Sawaya R., Gokaslan Z., Chintala S. K., Rao J. S., Chintala K. S. // Cancer Lett. – 1996. – Vol. 104. – P. 121–126.
11. Yan S. Molecular regulation of human cathepsin B: implication in pathologies / S. Yan, B. F. Sloane // Biol. Chem. – 2003. – Vol. 384, № 6. – P. 845–854.

Статья поступила в редакцию 22.10.2012

Г. П. Лабунець¹, И. Л. Вовчук¹, Н. А. Орел², В. А. Ногин¹

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. тел.: (0482)68 78 75, e-mail: irvov@mail.ru;

²Одеський обласний онкологічний диспансер, лабораторія патоморфології, вул. Нежданової, 32, Одеса, 65055, Україна, тел.: (0482) 23 43 87

АКТИВНІСТЬ КАТЕПСИНУ Н У ПУХЛИНІ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ЖІНОК РІЗНОГО ВІКУ

Резюме

Досліджено активність катепсину Н в зразках пухлини і прилеглий тканині молочної залози. В пухлинах встановлено підвищення вмісту білка. Максимальне підвищення питомої активності катепсину Н встановлено в пухлині у жінок в віці 21–30 років.

Ключові слова: катепсин Н, протеоліз, пухлина, молочна залоза.

G. P. Labunets*, I. L. Vovchuk*, N. A. Orel, V. A. Nogin**

*Odesa National Mechnikov University, Department of Biochemistry, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine. tel.: (0482)68 78 75, e-mail: irvov@mail.ru,

** Odesa regional oncologic dispensary, laboratory of patomorphology 32, Nezdanova str., Odesa, 65055, Ukraine, tel.: (0482) 23 43 87

ACTIVITY OF CATHEPSIN H IN MAMMARY GLAND TUMOR AT WOMEN OF DIFFERENT AGE

Summary

There were investigated the activity of cathepsin H in the samples of non-malignant tumor and adjacent to tumor tissues of a mammary gland. Increase of protein maintenance in the tumoral tissues is established. The maximum increase of activity of cathepsin H in tumoral samples is revealed at women at the age of 21–30 years old.

Key words: cathepsin H, proteolysis, tumor, mammary gland.