

# ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕИНАЗ-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

*Д. В. Прохоров*

*Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского*

Меланома кожи (МК) остается по-прежнему одной из главных проблем дерматоонкологии. Так, в Украине темпы роста заболеваемости МК занимают ведущее место в общей структуре онкопатологии. Особое значение в клинике придают ранней диагностике и лечению МК, возможности предупредить развитие метастазов (М). В настоящее время существует не достаточное количество методов для раннего выявления МК и ее отдаленных метастазов. Поэтому все большее значение придают лабораторным методам, например определению изменений активности сывороточных протеиназ и их ингибиторов в процессе опухолевого роста [3,4,5].

Известно, что прорастание опухоли в окружающие ткани сопровождается локальной секрецией опухолевыми клетками протеолитических ферментов, расщепляющих белки межклеточного матрикса; тем самым создаются более благоприятные условия для инвазии. На активность протеиназ влияют не только скорость их образования, но и их инактивация специфическими ингибиторами.

Интерес к изучению протеолитических ферментов при злокачественных новообразованиях объясняется их высокой биологической активностью, участием в защитных реакциях организма, обмене соединительной ткани, процессах роста и деления клеток. Раковые опухоли продуцируют сложный набор протеолитических ферментов и факторов, регулирующих их активность [2,6].

Значительное количество исследований посвящено изучению протеолитических ферментов, особенно лизосомного происхождения, в тканях злокачественных новообразований. Большинство авторов отметили, что активность тканевых протеиназ в злокачественных опухолях человека и экспериментальных животных выше, чем в тканях, из которых эти новообразования происходят [8,9].

Изучение многих систем *in vivo*, тканевых культур, трансформированных клеток показало, что злокачественный рост в основном сопровождается увеличением активности лизосомных протеиназ в тканях и жидких средах организма. Эти наблюдения послужили основанием для предположения, что активный протеолиз в опухоли может быть одной из причин метастазирования и инвазивного роста [10,11].

Протеолитические ферменты, играют роль в поддержании неконтролируемого размножения опухолевых клеток. Трансформированные клетки не переходят после деления в фазу  $G_0$  в связи с тем, что на их поверхности остаются активные протеиназы; на поверхности нормальных клеток эти ферменты активны только в период митоза. Протеолитические ферменты могут быть важным фактором регуляции скорости роста клеток. Активность кислых и нейтральных протеиназ, находящихся на поверхности трансформированных клеток, коррелирует со временем удвоения культур клеток. Для клеток со временем удвоения,

превышающим 3 дня, характерна меньшая активность протеолитических ферментов по сравнению с клетками с более коротким временем удвоения [12,13,14].

Цель данного исследования: изучение активности показателей протеиназ-ингибиторной системы в сыворотке крови и в коже пациентов с МК.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 35 пациентов КРУ «Клинический онкологический диспансер» (г. Симферополь) из них – мужчин 19 и женщин 16 в возрасте от 42 до 83 лет (средний возраст  $54,16 \pm 3,02$  года) с верифицированным диагнозом меланомы кожи ( $T_{1-3} N_0 M_0$ ). Контрольную группу составили 20 здоровых людей. Материалом исследования служила сыворотка крови больных и супернатанты кожных гомогенатов. Определение трипсиноподобной активности (ТПА) осуществляли путем измерения скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина от синтетического субстрата этилового эфира N- $\alpha$ -бензоил-L-аргинина (БАЭЭ). Определение эластазоподобной активности проводили по гидролизу синтетического субстрата N-t-вос-аланил-n-нитрофенилового эфира (БАНФЭ). Определение концентрации альфа-1-ингибитора протеиназ ( $\alpha 1$ -ИП) и кислотостабильных ингибиторов (КСИ) осуществляли по выявлению торможения расщепления трипсином БАЭЭ. Для определения кислотостабильных ингибиторов (КСИ), пробы предварительно обрабатывали для осаждения кислотоллабильных бел-

ков. [1]. Концентрацию белка определяли методом Лоури [7]. 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

Наши исследования показали, что в сыворотке крови пациентов с МК показатели протеиназ-ингибиторной системы достоверно увеличены в сравнении с контрольной группой (ЭПА+77,02%;  $p < 0,001$ ; ТПА+137,23%;  $p < 0,001$ ; КСИ+41,89%  $p < 0,001$ ; АТА+71,96%;  $p < 0,001$ ). При исследовании самой меланомы, также установлен достоверный рост изученных показателей в сравнении со здоровой кожей у лиц контрольной группы (ЭПА+52,74%;  $p < 0,001$ ; ТПА+69,89%;  $p <$ ; КСИ+29,78%;  $p < 0,005$ ; АТА+70,0%;  $p < 0,001$ ). Полученные нами данные свидетельствуют о роли белков системы протеолиза в патогенезе злокачественного процесса. Рост и инвазия МК сопровождается активацией компонентов системы протеолиза. Рост в сыворотке крови и в самой меланоме ингибитора протеолиза – АТА свидетельствует об ее усиленной секреции, которая, по сути является адекватным ответом на повышенную активность протеиназ. Повышение активности ингибиторов служит своеобразным компенсаторным механизмом, способным снизить процесс роста первичной опухоли.

Таблица 1

### Показатели протеиназ-ингибиторной системы СК здоровых людей и больных с МК

Группа	ЭПАмкмоль/ (мл.мин)	ТПАнмоль/ (мл.мин)	КСИ мкмоль/г	АТА, /мл
Контрольная группа (n=20)	0,196 $\pm$ 0,2	0,22 $\pm$ 0,03	7,8 $\pm$ 0,2	29,3 $\pm$ 1,6
Больные с МК (n=35)	0,35 $\pm$ 0,02*	0,522 $\pm$ 0,06*	11,1 $\pm$ 0,4*	50,3 $\pm$ 1,2*

Примечание: \* - показана достоверность отличия по отношению к контрольной группе.

## Показатели протеиназ-ингибиторной системы в коже здоровых людей и больных с МК

Группа	ЭПАмкмоль/ (мл.мин)	ТПАНмоль/ (мл.мин)	КСИ мкмоль/г	АТА, /мл
Контрольная группа (n=20)	22,8±1,9	10,7±0,9	0,116±0,01	0,09±0,09
Больные с МК (n=35)	35,0±1,1*	18,2±1,8*	0,151±0,02*	0,161±0,01*

Примечание: \* - показана достоверность отличия по отношению к контрольной группе.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, очевидна целесообразность определения в сыворотке крови и в самой ме-

ланоме показателей протеолиза и их ингибиторов, которые позволяют оценивать характер течения заболевания и прогнозировать дальнейшее течение злокачественного процесса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Молочков В. А., Баганский Л. С. Меланоцитарные невусы. Новые подходы к тактике врача // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2008. – № 4. – С. 35 – 41.
3. Оглобина О. Г., Арефьева Т. И. Роль протеолитических ферментов и ингибиторов в инвазии злокачественных опухолей. Биохимия, 1994; № 3; с. 340 – 352.
4. Рукша Т. Г., Аксененко М. Б., Гырылова С. Н. Злокачественные новообразования кожи: анализ заболеваемости в Красноярском крае, проблемы профилактики и совершенствования ранней диагностики // Вестник Дерматологии и Венерологии. – 2010. – № 4. – С. 4 – 9.
5. 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.
6. Сергеев Ю. В., Иванов О. Л., Сергеев В. Ю., Черкасова М. В. Цифровая видеодермоскопия: новые подходы к диагностике, лечению и профилактике заболеваний кожи // Росс. журн. кожн. и венерич. болезней. 2004. – № 1. – С. 23 – 28.
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 – нагальна 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. Nagore E., Oliver V., Botella-Estrada R. et al. Prognostic factors in localized invasive cutaneous melanoma: high value of mitotic rate, vascular invasion and microscopic satellitosis // Melanoma Res. – 2005. – Vol. 15. – P. 169 – 177.
11. Nomura T. Involvement of cathepsins in the invasion, metastasis and proliferation of cancer cells / T. Nomura, N. Katunuma // J. Med. Invest. – 2005. – V. 52 (1 – 2). – P. 1 – 9.
12. Spatz A., Shaw H. M., Crotty K. A. et al. Analysis of histopathological factors associated with prolonged survival of 10 years or more for patients with thick melanomas (> 5mm) // Histopathology. – 1998. – Vol. 33. – P. 406 – 413.
13. Straume O., Akslen L. A. Independent prognostic importance of vascular invasion in nodular melanomas // Cancer. – 1996. – Vol. 78. – P. 1211 – 1219.
14. Straume O., Jackoson D. G., Akslen L. A. Independent prognostic impact of lymphatic vessel density and presence of low-grade lymphangiogenesis in cutaneous melanoma // Clin. Cancer Res. – 2003. – Vol. 9. – P. 250 – 256.

---

**ХАРАКТЕРИСТИКА  
ПРОТЕЇНАЗ-ІНГІБІТОРНОЇ  
СИСТЕМИ У ХВОРИХ  
МЕЛАНОМОЮ ШКІРИ**

**Д. В. Прохоров**

**Резюме.** Досліджено стан протеїназ-інгібіторного потенціалу у 35 пацієнтів з меланомою шкіри. Встановлено, що злоякісний пухлинний процес призводить до однонаправленої збільшення активності протеїназ та їх інгібіторів.

---

**Ключові слова:** меланома шкіри, протеїнази, інгібітори протеїназ.

**CHARACTERIZATION OF  
PROTEINASE-INHIBITOR  
IN PATIENTS MELANOMA  
SKIN**

**D. V. Prokhorov**

**Resume.** The state of proteinase-inhibitory capacity of 35 patients with melanoma of the skin. Found that malignant neoplastic process leads to a unidirectional increase in the activity of proteinases and their inhibitors.

---

**Key words:** melanoma of the skin, proteinases, proteinase inhibitors.