



## ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНИ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕЕ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ РАКА

Е.М. Франциянц, Н.В. Солдаткина, Л.А. Орловская, А.В. Дашков  
ФГУ Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Росздрава

### TISSUE HYDROLYTIC ACTIVITY OF BREAST TUMOR AND ITS PERIFOCAL AREA IN DIFFERENT TYPES OF THE COURSE OF CANCER

Ye.M. Frantsiyants, N.V. Soldatkina, L.A. Orlovskaya, A.V. Dashkov  
Rostov Research Oncological Institute, Russian Agency for Health Care

*The activity of the tissue hydrolytic system of malignant tumors of the breast and their perifocal area was studied in relation to the type of the course of carcinoma — synchronous, metachronous, and solitary ones. The proteolytic activity of tumor tissue was found to be increased irrespective of the growth pattern. In the synchronous tumor tissue, the activity of proteolytic processes was much greater than that in the perimammary tissue, which corresponds to the most malignant clinical course of the cancer. In the perifocal areas of a metachronous tumor, the proteolytic activity exceeded that in the tumor tissue, which corresponds to the least malignant clinical course. In solitary growth pattern, circumscribed proteolysis was balanced between the tissue of the tumor and its perifocal area.*

Интерес к изучению функционирования гидролитической системы в тканях злокачественных опухолей связан с ролью протеолитической системы организма в управлении основными морфогенетическими реакциями, от которых в конечном счете зависят дифференцировка тканей и пролиферация клеток. Активность протеиназ используется в качестве маркера инвазивного и метастатического потенциала опухоли, а определение активности фосфатаз применяется в качестве диагностических тестов [1—4]. Имеются сообщения о том, что активность катепсина Д в ткани рака молочной железы (РМЖ) имеет такое же прогностическое значение, как и другие факторы: рак у родственников больных, доброкачественная патология молочных желез, изменение содержания в сыворотке глобулина, связанного с половыми гормонами [5].

Целью нашего исследования явилось изучение активности гидролитической системы ткани злокачественных опухолей молочной железы и их перифокальной зоны в зависимости от вариантов течения рака — синхронного, метахронного и одиночного.

В исследование включены 226 больных в возрасте от 39 до 47 лет, которым 1-м этапом лечения выполняли операцию, т.е. опухоль молочной железы соответствовала I—II стадии (T1—2N0—1M0), гистологически преобладал инфильтрирующий протоковый рак (82%).

В ткани злокачественных узловых опухолей молочной железы — одиночной (100 больных), синхронной (39 больных), второй метахронной (87 больных) — и в ткани перифокальной зоны опухолей исследовали активность катепсина Д, антитриптическую активность (АТА), кислотоста-

бильные ингибиторы (КСИ), активности кислой (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), соотношения катепсин Д/АТА, катепсин Д/КСИ, КФ/ЩФ.

Установлено (табл. 1—3), что в ткани опухоли при всех вариантах роста активность катепсина Д повышена по сравнению с таковой в интактной ткани молочной железы в среднем в 1,5 раза. При этом АТА в ткани одиночной и синхронной опухоли была снижена в 2 и 1,7 раза, тогда как в метахронной опухоли не отличалась от показателей в интактной ткани железы. Активность КСИ при всех вариантах роста опухоли не отличалась от значений в интактной ткани.

Известно, что наибольшее значение для оценки функционирования протеолитической системы имеет величина соотношения протеиназа/ингибитор. В ткани опухолей молочной железы эти коэффициенты значительно варьировали в зависимости от вариантов роста. Так, при одиночной опухоли коэффициент катепсин Д/АТА был в 3,1 раза выше показателя в интактной ткани, а коэффициент катепсин Д/КСИ превосходил контрольные значения в 1,6 раза (см. табл. 1). В ткани синхронной опухоли найдено увеличение коэффициентов катепсин Д/АТА и катепсин Д/КСИ в 2,4 и 1,4 раза соответственно по сравнению с показателями в интактной ткани (см. табл. 2). В ткани метахронной опухоли эти коэффициенты были в 2 и 1,5 раза выше, чем в интактной ткани.

Очевидно, что коэффициент катепсин Д/КСИ был одинаков при всех вариантах роста опухоли и значимо превышал показатели в интактной ткани железы. Значения же коэффициента катепсин Д/АТА убывали в ряду: одиночная опухоль → синхронная опухоль → метахронная опухоль.

Таблица 1. Показатели гидролитической активности ткани одиночной злокачественной опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны

Показатель	Интактная молочная железа	Злокачественная опухоль	Перифокальная зона опухоли
Катепсин Д, нмоль/мг белка	440±11,2	688±14,3*	944±15,2**
АТА, мг трипсина/мг белка	0,5±0,09	0,25±0,02*	0,4±0,03+
КСИ, мг трипсина/мл	0,75±0,06	0,7±0,05	0,74±0,04
КФ, нмоль/мг белка	66±5,2	36,5±2,8*	58±4,7+
ЩФ, мккат/мг белка	1,2±0,08	0,7±0,05*	0,4±0,02**
Катепсин Д/АТА	880±45,7	2752±81,5*	2484±56,9**
Катепсин Д/КСИ	587±31,4	980±76,4*	1260±81,9**
КФ/ЩФ	55±4,3	52,1±2,8	145±13,7**

*Примечание.* Здесь и в табл. 2 и 3  $p < 0,05$ : \*по сравнению с интактной тканью, + по сравнению с опухолью.

Таблица 2. Показатели гидролитической активности ткани синхронной злокачественной опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны

Показатель	Интактная молочная железа	Злокачественная опухоль	Перифокальная зона опухоли
Катепсин Д, нмоль/мг белка	440±11,2	624±32,2*	624±28,6*
АТА, мг трипсина/мг белка	0,5±0,09	0,3±0,01*	1,25±0,1**
КСИ, мг трипсина/мл	0,75±0,06	0,74±0,04	2,0±0,14**
КФ, нмоль/мг белка	66±5,2	26±2,8*	50±3,7**
ЩФ, мккат/мг белка	1,2±0,08	1,2±0,05	0,4±0,02**
Катепсин Д/АТА	880±45,7	2080±81,5*	499±36,9**
Катепсин Д/КСИ	587±31,4	843±76,4*	312±26,9**
КФ/ЩФ	55±4,3	21,7±2,1*	125±11,4**

Таблица 3. Показатели гидролитической активности ткани метасинхронной злокачественной опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны

Показатель	Интактная молочная железа	Злокачественная опухоль	Перифокальная зона опухоли
Катепсин Д, нмоль/мг белка	440±11,2	688±24,3*	1008±74,3**
АТА, мг трипсина/мг белка	0,5±0,09	0,4±0,03	0,25±0,02**
КСИ, мг трипсина/мл	0,75±0,06	0,8±0,06	0,56±0,04**
КФ, нмоль/мг белка	66±5,2	25±2,1*	58±3,7+
ЩФ, мккат/мг белка	1,2±0,08	1,2±0,06	0,9±0,04**
Катепсин Д/АТА	880±45,7	1720±61,5*	4032±126,9**
Катепсин Д/КСИ	587±31,4	860±56,4*	1800±131,9**
КФ/ЩФ	55±4,3	20,8±1,7*	64,4±5,3**

Имеются данные о том, что соотношение активности протеаз и ингибиторов значительно выше в ткани злокачественных опухолей молочной железы, чем в доброкачественных новообразованиях и нормальной ткани [6, 7].

С этих позиций наши результаты свидетельствуют о меньшей степени злокачественности метасинхронной опухоли молочной железы по сравнению с одиночной и синхронными опухолями.



Исследование соотношения активности КФ и ЩФ, характеризующего состояние системы энергообеспечения, показало, что при одиночной опухоли оно не отличалось от значений в интактной ткани, хотя абсолютные показатели активности КФ и ЩФ были снижены на 45 и 41,7% соответственно (см. табл. 1). В ткани синхронной и метахронной опухолей этот коэффициент снижен по сравнению с интактной тканью железы в 2,5 раза, что обусловлено снижением активности только КФ при неизменной активности ЩФ (см. табл. 2, 3).

Анализ систем деградации внеклеточного матрикса позволил сделать вывод, что при раковой инвазии часто существует критическое взаимодействие между опухолевыми и окружающими неопухолевыми клетками. В процессах восстановления нормальной ткани синтез протеолитических компонентов часто распределяется между несколькими типами клеток, и существует очевидное сходство между опухолевыми и неопухолевыми процессами. Следовательно, события восстановления на уровне ткани являются моделью для изучения внеклеточного протеолиза при раке [8].

В этой связи мы сочли интересным изучить активность гидролитических процессов в перифокальной зоне опухоли также в зависимости от формы роста (см. табл. 1–3). Установлено, что активность катепсина Д в перифокальной зоне одиночной и метахронной опухоли была в среднем в 2,1 раза выше, чем в интактной ткани молочной железы, и в 1,5 раза выше, чем в соответствующей опухоли. Активность катепсина Д в перифокальной зоне синхронной опухоли превышала показатель в интактной ткани в 1,4 раза и не отличалась от таковой в ткани соответствующей опухоли. При этом АТА и активность КСИ в ткани перифокальной зоны одиночной опухоли не отличались от значений в интактной ткани. АТА и активность КСИ в перифокальной зоне синхронной опухоли были в 2,5 и 2,7 раза выше, чем в интактной ткани. В перифокальной зоне метахронной опухоли эти показатели, напротив, были снижены в 1,4 раза и 2 раза соответственно по сравнению с показателями в интактной ткани молочной железы.

Особый интерес, как и в случае злокачественной ткани, представляло рассмотрение коэффициентов катепсин Д/АТА и катепсин Д/КСИ. Оказалось, что в перифокальной зоне одиночной опухоли молочной железы эти коэффициенты достоверно не отличались от показателей в ткани соответствующей опухоли и превышали значения в ткани интактной молочной железы в 2,8 и 2,1 раза. При синхронной опухоли величина этих коэффициентов в перифокальной зоне бы-

ла в 1,8 и 1,9 раза ниже, чем в интактной ткани, и в 4,2 и 2,7 раза ниже значений в ткани соответствующей опухоли. И, наконец, при метахронной опухоли эти коэффициенты в перифокальной зоне превосходили показатели в интактной ткани молочной железы в 4,6 и 3,1 раза соответственно, а показатели в ткани самой опухоли — в 2,3 и 2,1 раза.

Соотношение активности КФ и ЩФ в перифокальной зоне опухоли при всех вариантах роста превышало соответствующие значения в ткани интактной молочной железы и убывало в ряду: одиночная опухоль (в 2,6 раза) → синхронная опухоль (в 2,3 раза) → метахронная опухоль (в 1,2 раза).

Таким образом, при различных вариантах роста опухолей молочной железы имеются определенные отличия в функционировании гидролитической системы как в опухоли, так и в перифокальной зоне.

Наши результаты показали, что протеолитическая активность ткани опухолей молочной железы повышена вне зависимости от формы течения заболевания. Это служит дополнительным доказательством роли протеиназ в распространении опухоли, поскольку известно влияние протеиназ на процессы локальной деструкции, обеспечивающие инвазию и метастазирование [4, 8–11]. В связи с этим обсуждается целесообразность использования ингибиторов протеаз после радикального хирургического удаления опухоли [12].

Сниженная по сравнению с перифокальной зоной протеолитическая активность ткани опухолей при синхронной и метахронной опухоли отражает, на первый взгляд, агрессивность окружающей ткани молочной железы по отношению к возникшей опухоли, тогда как при синхронной опухоли имеется полное равновесие в уровне протеолитической активности ткани опухоли и ее перифокальной зоны. Учитывая, что активность катепсина Д в ткани опухоли молочной железы отражает ее инвазивность, можно предположить возможность ограничения роста опухоли со стороны окружающей ткани при одиночных и вторых метахронных опухолях.

Для понимания биологической сути различных форм роста опухолей целесообразно рассматривать систему протеиназа — ингибитор, так как протеолиз является механизмом извлечения информации, закодированной в белках и необходимой для реализации биологических функций [13]. Особое значение придают участию протеаз опухоли в развитии толерантности иммунной системы. Так, протеолитические ферменты могут ослаблять антигенные свойства опухоле-

вых клеток [14], приводить к слущиванию антигенов и образованию циркулирующих иммунных комплексов, являющихся компонентами сывороточных блокирующих факторов. Стабилизация клеточных мембран, ингибирование протеолитической активности, удаление из плазмы блокирующих факторов могут ослабить блокаду эффекторного звена противоопухолевого иммунитета [15, 16].

С этих позиций три исследуемых варианта течения РМЖ имеют между собой принципиальные отличия. Так, при синхронном раке активность протеолитических процессов значительно превосходит уровень ограниченного протеолиза в окружающей опухоль ткани, который, в свою очередь, гораздо ниже, чем в интактной ткани железы. В такой ситуации целесообразно ожидать агрессии опухолей в сторону перифокальной зоны с возможным повреждением поверхностных структур и рецепторного аппарата клеточных мембран, выбросом в кровяное русло антигенного материала и блокированием иммунными комплексами иммунокомпетентной системы. Эта форма роста опухоли должна быть самой агрессивной.

При метакронной опухоли активность протеолиза в перифокальной зоне значительно превосходит таковую в ткани самой опухоли, т.е. создается впечатление, что окружающая опухоль ткань молочной железы пытается ограничить рост злокачественной опухоли, презентирова антигены опухоли иммунокомпетентным клеткам в ткани, прилежащей к опухолевой.

При одиночной форме роста опухоли молочной железы уровень ограниченного протеолиза уравновешен между тканью опухоли и ее перифокальной зоной, т.е. эту форму роста можно рассматривать как наиболее сложную для распознавания эффекторными клетками иммунокомпетентной системы.

Следует отметить также однонаправленное изменение соотношения активности КФ и ЩФ по отношению к таковому в перифокальной области злокачественной опухоли в зависимости от формы ее роста. Этот показатель свидетельствует о наличии нарушений в системе энергообеспечения ткани во всех исследованных случаях.

### Выводы

1. Протеолитическая активность ткани солидных опухолей молочной железы повышена вне зависимости от формы течения заболевания.
2. При синхронном РМЖ активность протеолитических процессов в ткани опухоли значительно превосходит таковую в окружающей опухоли ткани молочной железы, что соответствует наиболее злокачественному клиническому течению опухоли.
3. При метакронном РМЖ активность протеолиза в перифокальной зоне опухоли значительно превосходит таковую в ткани опухоли, что соответствует наименее злокачественному клиническому течению опухоли.
4. При одиночной форме роста РМЖ уровень ограниченного протеолиза уравновешен между тканью опухоли и ее перифокальной зоной.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Емельянова Л.Э. Интраоперационная химиотерапия на аутологических средах организма в лечении местнораспространенного рака ободочной кишки. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д; 2006.
2. Зуева Н.Н., Далев П.Г., Лазарова Д.Л. Свойства, получение и практическое применение щелочной фосфатазы. Биохимия 1993;58(7):1009—23.
3. Котомин Б.В. Калликреин, щелочная и кислая фосфатазы слюны в норме и патологии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1970.
4. Локшина Л.А. Протеолитические ферменты в процессах онкогенеза. Вопр мед химии 1991;37(6):15—21.
5. Garcia-Fantini M., Garcia-Alba M., Garsia-Fantini M. Toko-ginecol Pract 1998;(627):79—82.
6. Гешелин С.А., Вовчук С.В., Близнак Б.Ф., Мухамед И. Активность компонентов протеолитической системы ткани опухоли в дифференциальной диагностике доброкачественных новообразований рака молочной железы. Тез. докл. VIII съезда онкологов УССР. Донецк; 1990. с. 101—2.
7. Dutty M.G., Brouillet S.P., Reilly D. et al. Cathepsin D concentration in breast cancer cytosol: Correlation with biochemical, histological and clinical findings. Clin Chem 1991;(1):101—4.
8. Goel A., Chauhan S. Role of proteases in tumor invasion and metastasis. Indian J Exp Biol 1997;(6):553—64.
9. Filipovic S., Filipovic B., Projevic M. Cathepsin D nezavishi prognosticki parametar u karcinomu dojke. Acta Med Mediane 1991;(1):5—11.
10. Garcia M., Deroca D., Pujol P., Rochefort H. Overexpression of transfected cathepsin D in transformed cells increases their malignant phenotype and metastatic potency. Oncogeny 1990;(12):1809—14.
11. Leto G., Gebbia N., Rausa L., Tumminello F.M. Cathepsin D in the malignant progression of neoplastic diseases. Anticancer Res 1992;(1):234—40.
12. Крутяков В.М., Кравецкая Т.П. Ингибиторы протеолитических ферментов в биотерапии злокачественных опухолей. В кн.: Scientific activity at the last third of the 20th century: Mol. and Radiat. Biophys. С.-Пб.; 2001. с. 158—60.
13. Локшина Л.А. Протеолитические ферменты в регуляции биологических процессов. Биоорганич химия 1994;(2):134—42.
14. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П. Протеолиз и злокачественный рост. Вопр мед химии 1986;(6):17—24.
15. Клячкин Б.М. Антиблокирующая терапия рака. Мат. I съезда онкологов СНГ. М.; 1996. Ч. 1. с. 158—9.
16. Ровенский Ю.А. Клеточные и молекулярные механизмы опухолевой инвазии. Биохимия 1998;(9):1204—21.