

Пржедецкий Ю.В., Позднякова В.В., Комарова Е.Ф., Шарай Е.А.

Некоторые показатели системы активации плазминогена в тканях базальноклеточного рака кожи

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Przhedetsky Yu.V., Pozdnyakova V.V., Komarova E.F., Sharay E.A.

Some parameters of plasminogen activation system in tissues of basal cell skin carcinoma

Резюме

Методом ИФА в ткани опухоли и ее перифокальной зоны 73 больным базальноклеточным раком (БКР) кожи T1-3N0M0 стадии процесса: солидной (n=21), язвенно-инфильтративной (n=17), поверхностной клинических форм (n=15) и рецидивным (n=20) определяли содержание и активность: активатора плазминогена урокиназного (uPA) и тканевого типов (tPA), а так же ингибитора активатора плазминогена (PAI-1). В качестве контроля использовали 20 образцов здоровой кожи пациентов без онкопатологии. Полученные результаты свидетельствуют о разбалансировке системы активации плазминогена в опухолевых тканях первичных и рецидивных процессов. Отмечено усиление синтеза и активности uPA, увеличение уровня PAI-1. Динамика изменения показателей изученной системы сходна в тканях перифокальных зон опухолей и здоровой кожи.

Ключевые слова: онкодерматология, система активации плазминогена

Summary

Levels and activity of urokinase-type plasminogen activator (uPA), tissue plasminogen activator (tPA), plasminogen activator inhibitor (PAI-1) were determined by ELISA in tissues of tumor and its perifocal zone of 73 patients (44-87 years old) with T1-3N0M0 BCC: solid (n=21), ulcerative infiltrative (n=17) and superficial (n=15) clinical types, as well as recurrent (n=20). Intact tissue obtained during surgery from patients without oncopathology (n=20) was used as the control. The results showed imbalance in plasminogen activation system in primary and recurrent BCC tumors. Primary and recurrent tumor samples of all clinical types showed a unidirectional dynamics in components of this system: increase in uPA synthesis and activity with significant increase in PAI-1 level. Dynamics of the parameters in tissues of perifocal zone was similar both to tumor tissues (tPA activity and PAI-1 content) and intact tissues while being different in some changes characterizing dysfunctions in the studied system.

Key words: oncodermatology, system plasminogen activators

Введение

Среди злокачественных новообразований кожи в структуре онкологической патологии в РФ наиболее часто встречается базальноклеточный рак (БКР) кожи [1, 2]. Отмечено более тяжелое течение БКР кожи в современных условиях [3, 4]. Каждый десятый больной имеет множественные опухоли, достаточно крупных размеров, а также редкие варианты опухолей, дифференцировать которые можно только гистологически. Все актуальнее становится проблема рецидивов БКР кожи, встречаемость которых колеблется от 4,3 до 24,4% [5]. В то же время целенаправленные исследования по изучению патогенеза развития рецидивов БКР кожи представлены единичными работами [6].

Базальноклеточный рак (БКР) кожи представляет собой гетерогенную по клиническим проявлениям группу опухолей, отличающиеся и по своему биологическому поведению (неагрессивные и агрессивные - рецидивирующие, проникающие, метастазирующие - формы) [7, 8].

При изучении системы активации плазминогена - важнейшей участницы метастазирования и инвазии - было выявлено в большинстве злокачественных опухолей различного гистогенеза значительное увеличение концентрации урокиназного активатора плазминогена (uPA) и ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) по сравнению с гомологичными нормальными тканями и доброкачественными новообразованиями [9]. В системе активации плазминогена роль ингибиторов, в частности,

PAI-1 может сводиться не только к подавлению мета-стазирования и инвазии (через торможение активации плазминогена и всего следующего протеолитического каскада), но и к распространению опухолевого процесса (защита опухолевых клеток от протеолиза). Исследования функционирования системы активации плазминогена при базальноклеточных опухолях кожи в современной литературе представлены единичными работами. Так, изучив в сравнительном аспекте уровень урокиназного активатора и его ингибитора при базальноклеточном и плоскоклеточном раке кожи (обладающим большим метастатическим потенциалом), Maguire T et al пришли к выводу, что низкая метастатическая активность БКР может быть частично связана с низкой экспрессией компонентов системы uPA [10].

В связи с вышесказанным целью исследования явилось изучение активности и содержания активаторов урокиназного типа (uPA), тканевого типа (tPA) и ингибитора активатора плазминогена PAI-1 в ткани опухоли и перифокальной зоны при различных клинических формах базальноклеточного рака кожи и его рецидивах.

Материалы и методы

Основную группу составили 73 больных возрастом от 44 до 87 лет базальноклеточным раком кожи T1-3N0M0 стадии процесса: солидной (n=21), язвенно-инфильтративной (n=17) и поверхностной клинических форм (n=15), а также рецидивным (n=20) базальноклеточным раком кожи. В качестве контроля использовали здоровую кожу, полученную при оперативном лечении пациентов без онкопатологии (n=20). В каждом конкретном случае было получено добровольное информированное согласие больных на использование материалов для проведения научных исследований.

Диагностика рака основывалась на результатах гистологического исследования в соответствии с отраслевыми стандартами и алгоритмами объемов диагностики и лечения злокачественных новообразований в онкологии.

Были изучены ткани опухоли и ее перифокальной зоны (образцы на расстоянии 1 см от видимого края опухоли), взятые во время оперативного вмешательства и заморожены для дальнейшего хранения при температуре -70°C . Содержание (uPA код) и активность (uPA акт) активатора плазминогена урокиназного типа, содержание (tPA код) и активность (tPA акт) активатора плазминогена тканевого типа, содержание (PAI-1 код) и активность (PAI-1 акт) ингибитора активатора плазминогена определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-систем (Techncloпе, Австрия) в 10% цитозольных фракциях, приготовленных на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащим 0,1% Tween-20 и 1% БСА.

Данные обрабатывались при помощи пакета статистических программ «STATISTICA 10.0». При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты и обсуждение

В опухолевой ткани всех первичных вариантов БКР содержание tPA статистически значимо повышено относительно контроля: при солидной форме – в 1,8 раза, при язвенно-инфильтративной – в 2,6 раза, при поверхностной – в 1,9 раза (таблица 1). Активность tPA также выше в среднем в 2,4 раза, чем в контроле.

Активность тканевого активатора плазминогена в ткани перифокальной зоны первичных опухолей БКР кожи повышена независимо от клинической формы в среднем в 2 раза относительно контрольных показателей.

Однако содержание этого активатора в тканях перифокальной зоны изменяется неравномерно. При солидных опухолях этот показатель снижен в 1,6 раза, при язвенно-инфильтративной форме – статистически не изменяется по сравнению с контрольными значениями. Напротив при поверхностном базальноклеточном раке кожи содержание тканевого активатора повышен 1,5 раз, также как в случае рецидивной опухоли (повышен в 1,3 раза). При этом содержание тканевого активатора в ткани перифокальных зон, как первичных, так и рецидивных опухолей статистически значимо ниже чем в соответствующих опухолевых тканях. Уровень tPA наиболее снижен по сравнению с опухолевой тканью в перифокальной зоне язвенно-инфильтративной формы БКР кожи (в 3,2 раза), при солидной форме – в 2,9 раза, при поверхностной – в 1,3 раза. В ткани рецидивной опухоли этот показатель в перифокальной зоне ниже в 1,4 раза по сравнению с тканью самой опухоли.

В ткани рецидивных опухолей базальноклеточного рака кожи уровень и активность tPA повышены в 1,7 и 2,5 раза соответственно по сравнению с контрольными значениями (таблица 1). При этом в ткани их перифокальных зон активность tPA аналогична контролю, а содержание находится на уровне соответствующей опухолевой ткани, превышая контрольные значения в 1,3 раза.

При исследовании содержания урокиназного активатора в ткани при солидной форме БКР выявлено увеличение показателя в ткани опухоли в 3,9 раза (таблица 1). При этом в ткани перифокальной зоны этого варианта БКР уровень uPA достоверно не отличается от контроля. Подобная тенденция изменения содержания uPA отмечена и в тканях при язвенно-инфильтративной и поверхностной формах БКР кожи. Так в тканях при язвенно-инфильтративной форме БКР уровень uPA повышен в опухолевой ткани в 4,9 раза, при поверхностной форме — в 2,9 раза при неизменном содержании в тканях их перифокальных зон. Активность uPA в тканях при всех клинических формах БКР увеличена в опухолевых тканях в среднем в 1,7 раза, а в тканях их перифокальных зон – аналогична контрольным значениям.

В тканях рецидивной опухоли обнаружено повышение уровня изученного показателя как в опухолевой ткани, так и в ткани ее перифокальной зоны: в 5,6 и 1,8 раза соответственно. Активность uPA в опухолевой и перифокальной тканях рецидивов, подобна изменениям в тканях первичных опухолей БКР кожи: повышена в ткани опухоли почти в 2 раза и отсутствует достоверных отличий в ткани перифокальной зоны относительно контроля.

Таблица 1. Активаторы плазминогена и ингибитор PAI-1 в ткани базальноклеточного рака кожи при различных его вариантах

| Группы | Показатели, сл/г ткани | | | | | | |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | tPA акт | tPA сод | uPA акт | uPA сод | PAI-1 акт | PAI-1 сод | |
| Контроль | 0,75±0,06 | 8,4±0,6 | 0,86±0,07 | 3,7±0,4 | 10,7±1,0 | 22,6±2,3 | |
| Солідные | ОП | 1,7±0,2 ¹ | 15,4±1,5 ¹ | 1,4±0,1 ¹ | 14,5±1,1 ¹ | 11,4±0,9 | 213,8±19,6 ¹ |
| | ПЗ | 1,4±0,1 ¹ | 5,3±0,5 ^{1,2} | 0,81±0,06 | 3,3±0,3 ² | 10,9±0,9 | 18,3±1,7 ² |
| Язвенно-инфильтративные | ОП | 1,95±0,2 ¹ | 23,7±2,2 ¹ | 1,6±0,1 ¹ | 18,1±1,3 ¹ | 12,3±1,2 | 237,1±18,8 ¹ |
| | ПЗ | 1,4±0,1 ^{1,2} | 7,5±0,6 ² | 0,8±0,07 | 3,5±0,3 ² | 4,9±0,5 ^{1,2} | 39±2,8 ^{1,2} |
| Поверхностные | ОП | 1,5±0,1 ¹ | 15,9±1,3 ¹ | 1,4±0,1 ¹ | 10,6±1,1 ¹ | 10,8±1,1 | 142,8±10,4 ¹ |
| | ПЗ | 1,6±0,1 ¹ | 12,3±1,1 ¹ | 0,9±0,08 | 3,2±0,3 ² | 6,3±0,5 ^{1,2} | 40,3±3,3 ^{1,2} |
| Рецидивы | ОП | 1,9±0,1 ^{1,2} | 14,6±1,2 ¹ | 1,7±0,1 ¹ | 20,7±1,8 ¹ | 11,8±1,2 | 198,7±13,5 ¹ |
| | ПЗ | 0,75±0,05 ² | 10,8±1,1 ¹ | 1,1±0,1 ^{1,2} | 6,5±0,5 ^{1,2} | 11,8±0,9 | 20,5±1,7 ² |

Примечания: 1- отличия достоверны относительно группы контроля (p≤0,05); 2-отличия достоверны относительно соответствующей опухолевой ткани (p≤0,05). ОП-ткань опухоли, ПЗ – ткань перифокальной зоны. Уровень показателей нормирован на грамм влажной ткани.

Таблица 2. Коэффициенты соотношения показателей системы активации плазминогена в ткани базальноклеточного рака кожи при различных его вариантах

| Группы | Коэффициент соотношения | | | | |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | tPA акт/ tPA сод | uPA акт/ uPA сод | uPA акт/ tPA акт | uPA сод/ tPA сод | |
| Контроль | 0,09±0,01 | 0,23±0,02 | 1,0±0,1 | 0,4±0,03 | |
| Солідные | ОП | 0,1±0,01 | 0,09±0,01 ¹ | 0,84±0,08 | 0,9±0,1 ¹ |
| | ПЗ | 0,26±0,02 ^{1,2} | 0,25±0,02 ^{1,2} | 0,63±0,05 ^{1,2} | 0,6±0,05 ^{1,2} |
| Язвенно-инфильтративные | ОП | 0,09±0,01 | 0,08±0,01 ¹ | 0,82±0,08 | 0,8±0,08 ¹ |
| | ПЗ | 0,2±0,02 ^{1,2} | 0,2±0,02 ² | 0,61±0,04 ^{1,2} | 0,5±0,05 ^{1,2} |
| Поверхностные | ОП | 0,09±0,01 | 0,1±0,01 ¹ | 0,91±0,05 | 0,7±0,05 ¹ |
| | ПЗ | 0,1±0,01 ¹ | 0,29±0,03 ² | 0,60±0,05 ^{1,2} | 0,3±0,03 ^{1,2} |
| Рецидивы | ОП | 0,1±0,01 ¹ | 0,08±0,01 ¹ | 0,92±0,05 | 1,4±0,2 ¹ |
| | ПЗ | 0,07±0,01 ^{1,2} | 0,17±0,01 ^{1,2} | 1,51±0,1 ^{1,2} | 0,6±0,05 ^{1,2} |

Примечания: 1- отличия достоверны относительно группы контроля (p≤0,05); 2-отличия достоверны относительно соответствующей опухолевой ткани (p≤0,05). ОП-ткань опухоли, ПЗ – ткань перифокальной зоны. Уровень показателей нормирован на грамм влажной ткани.

В таблице 1 представлены также данные о содержании и активности ингибитора активаторов плазминогена – PAI-1 в ткани при различных клинических формах первичных и рецидивных опухолях БКР кожи. Содержание ингибитора PAI-1 в ткани опухоли повышено при солидной форме - в 9,5 раза, при язвенно-инфильтративной – в 10, 5 раз, при поверхностной - в 6,3 раза (таблица 1). Активность PAI-1 в опухолевой ткани остается на уровне контрольных значений.

В ткани перифокальных зон базалиом при язвенно-инфильтративной и поверхностной форме уровень ингибитора повышен в среднем в 1,7 раз, а его активность снижена в 2,2 и 1,7 раза соответственно. В ткани перифокальной зоны солидной формы БКР содержание и активность PAI-1 остается на уровне контрольных значений.

В ткани рецидивной опухоли уровень ингибитора активатора плазминогена повышен в 8,6 раза, а его активность – аналогична соответствующим показателям в контроле. В перифокальной зоне рецидивной опухоли содержание и активность PAI-1 также остается на уровне контрольных значений.

Несмотря на повышение как активности, так и концентрации tPA в опухолевой ткани, их соотношение статистически значимо не отличается от показателя в здоровой коже (таблица 2). Баланс активности и содержания uPA, напротив, значительно ниже в исследованных опухолевых тканях: при солидной форме – в 2,6 раза, при язвенно-инфильтративной – в 3 раза, при поверхностной – в 2,3 раза относительно контрольных значений. В ткани рецидивной опухоли коэффициент uPA акт / uPA сод также статистически значимо снижен относительно контроля (в 2,9 раза).

В тканях перифокальных зон базалиом коэффициент соотношения tPA акт / tPA сод только при солидной и язвенно-инфильтративной форме БКР кожи превышает в 2,9 и 2,2 раза соответствующий показатель в опухолевой ткани и здоровой коже. При этом коэффициент соотношения uPA акт / uPA сод в перифокальных зонах всех первичных и рецидивных опухолей статистически значимо не отличался от (таблица 2).

Нами проанализировано соотношения уровня и активности урокиназного и тканевого активаторов (таблица 2). Коэффициент соотношения содержания uPA/tPA уве-

личен по сравнению с контролем в случае солидных, язвенно-инфильтративных, поверхностных опухолей в 2,3; 2 и 1,8 раза соответственно. В случае рецидивных опухолей коэффициент uPA/tPA увеличен в 2,5 раза. Соотношения исследуемых показателей в тканях перифокальных зон первичных и рецидивных опухолей БКР достоверно не отличаются от такового в здоровой коже.

Коэффициент соотношения активностей урокиназного и тканевого активаторов в опухолевой ткани как первичных (независимо от клинической формы), так и рецидивных опухолей статистически значимо не отличается от аналогичного показателя в контроле. В тканях перифокальных зон опухолей при первичных процессах данный показатель достоверно снижен относительно нормы в среднем в 1,7 раза. В перифокальной ткани рецидивной опухоли, напротив, активность урокиназного активатора выше, поскольку отмечено увеличение коэффициента $uPAакт/ tPAакт$ в 1,5 раза по сравнению с показателем в здоровой коже.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о разбалансировке системы активации плазминогена в опухолевых тканях первичных и рецидивных опухолей базальноклеточного рака кожи. Независимо от клинической формы первичной опухоли и в ткани рецидивов отмечена однонаправленная динамика компонентов этой системы.

В современной литературе указывается на снижение концентрации тканевого активатора плазминогена при различных новообразованиях и взаимосвязь его активности с агрессивностью опухоли [9]. Однако, нами выявлено повышение как активности, так и содержания тканевого активатора плазминогена в опухолевой ткани при БКР кожи. Аналогичная динамика этого показателя была выявлена нами ранее при исследовании гиперпластических процессов молочной железы и матки [11]. Обнаружено усиление синтеза и активности активатора плазминогена урокиназного типа в опухолевой ткани различных клинических форм первичных и рецидивных опухолей базальноклеточного рака кожи. Параллельно в опухолевой ткани первичных и рецидивных форм БКР кожи происходит значительное увеличение уровня ингибитора активатора плазминогена. Полученные нами результаты свидетельствуют об увеличении выброса активаторов не сбалансированном соответствующим усилением выброса PAI-1 и отсутствием его ингибирующей роли.

Несмотря на однонаправленное усиление синтеза обоих активаторов плазминогена обнаружено превалирование концентрации урокиназы в тканях опухоли при базальноклеточном раке кожи, о чем свидетельствует увеличение коэффициента соотношения $uPA \text{ сод}/ tPA \text{ сод}$ по сравнению со здоровой кожей. При этом соотношение активности активаторов плазминогена в опухолевой ткани БКР кожи при повышенной их выработке не отличается от здоровой кожи и идентична во всех исследованных группах, что может говорить об одинаковой выраженности процессов превращения плазминогена в плазмин как с помощью тканевого, так и урокиназного активатора. Значительное повышение тканевой концентрации уро-

киназного активатора и ингибитора активатора плазминогена является, по мнению Е.С.Герштейна и соавторов (2013), «универсальным признаком малигнизации». Это мнение было подтверждено многочисленными исследованиями для рака молочной железы, колоректального рака, рака слизистой оболочки рта, желудка, рака яичников, опухолей костей, новообразований щитовидной железы [9, 12, 13, 14, 15]. Полученные нами результаты свидетельствуют, что базальноклеточный рак кожи не является исключением.

В тканях перифокальных зон как при первичном, так и при рецидивном БКР кожи значения большинства исследованных компонентов системы активации плазминогена снижены относительно ткани самой опухоли. Однако, ткани перифокальных зон первичных опухолей БКРК характеризуются повышенной активностью тканевого активатора плазминогена на фоне неизменного уровня и активности урокиназы. При этом содержание tPA и PAI-1, а также активность последнего в окружающих тканях первичных опухолей неодинаково. Показано снижение активности PAI-1 и повышение его содержания при язвенно-инфильтративных и поверхностных клинических формах БКР, а также снижение синтеза tPA при солидных и повышение при поверхностных опухолях.

В ткани перифокальных зон рецидивных опухолей, напротив, выявлено усиление синтеза и активности урокиназного активатора, не сбалансированное ни выработкой ингибитора, ни активностью тканевого активатора.

Заключение

Таким образом, показатели изученной системы в тканях перифокальных зон сходны по направленности изменений как с опухолевыми тканями (активность tPA , содержание PAI-1) так и со здоровой кожей (активность и содержание урокиназы при первичном росте), а также имеют свойственные только тканям перифокальных зон изменения, характеризующие нарушения в функционировании изученной системы. Эти факты требуют объяснения, которое возможно будет получено при изучении параметров ниже- и вышележащего уровней в многоступенчатой цепочке протеаз, ведущей к разрушению внеклеточного матрикса. ■

Пржедецкий Ю.В., Позднякова В.В., Камарова Е.Ф., Шарай Е.А., ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», Минздрава России, Ростов-на-Дону. Автор, ответственный за переписку - Пржедецкий Ю.В., 344072, г. Ростов-на-Дону, пр-т 40-летия Победы, д. 63/12 кв.118. e-mail: doctor-rnioi@yandex.ru

Литература:

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. ред.: Злокачественные новообразования в России в 2009 г. (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИ-ОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России 2011; 260.
2. Гамаюнов С.В., Шумская И.С. Базальноклеточный рак кожи – обзор современного состояния проблемы; *Практическая онкология*; Т. 13: №2; 2012.
3. Чупров И.Н. Клинико-морфологический анализ базально-клеточного рака кожи // *Библиотека патологоанатома. г. Санкт-Петербург*; 2013.
4. Varga E, Korot I, Rask Z. et al Neglected Basal Cell Carcinomas in the 21st Century; *Journal of Skin Cancer*; Volume 2011; Article ID 392151
5. Дубенский В.В., Дубенский Вл.В. Новообразования кожи в практике дерматовенеролога. Вопросы эпидемиологии, этиологии и патогенеза, диагностики; *Вестник дерматологии и венерологии* 2008; № 6: 22-40.
6. Розенко Л.Я., Франциянц Е.М., Джабаров Ф.Р., Макарова К.В. К вопросу патогенеза развития рецидивов базально-клеточного рака кожи; *Сибирский онкологический журнал* 2010; №3 (39): 14-19
7. Молочков В.А., Горохов Н.Г. Синдром Горлина-Гольтца; *Вестник дерматол*; №5: 67.
8. Asilian A., Tamizifar B. Aggressive and neglected basal cell carcinoma; *Dermatol. Surg.* 2005; Vol. 31. № 11: 1468–1471.
9. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных; *Вестник РАМН* 2013. № 5: 16-27
10. Maguire T, Chin D, Soutar D, Duffy MJ. Low levels of urokinase plasminogen activator components in basal cell carcinoma of the skin. *Int J Cancer.* 2000; Feb 15; 85(4): 457-9.
11. Франциянц Е.М., Комарова Е.Ф., Верескунова М.И., Черярина Н.Д. Состояние тканевой фибринолитической системы при опухолях органов женской репродуктивной системы; *Успехи современного естествознания* 2014; № 4: 46-48
12. Захарова Н.А., Семиглазов В.Ф., Duffy S.W. Скрининг рака молочной железы. *ГЭОТАР-Медиа* 2011; 176.
13. Minoo P, Baker K, Baumhoer D, Terracciano L, Lugli A, Zlobec I: Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer. *Hum Pathol* 2010; 41(1):70–78.
14. Юрченко А.А. Клиническое значение некоторых тканевых маркеров метастазирования при раке желудка. Автореф дисс канд мед наук; Москва 2007
15. Франциянц Е.М., Козлова Л.С., Комарова Е.Ф., Верескунова М.И., Кучкина Л.П. Фактор роста эндотелия сосудов и система фибринолиза в ткани молочной железы при гиперпластических процессах различного генеза, *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*; №4: 214; 97-100