

Исследование матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных с новообразованиями яичников

К.П. Лактионов, Н.В. Лёвкина, Д.Н. Кушлинский, Е.С. Герштейн

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Наталья Васильевна Лёвкина ya.n-levkina@yandex.ru

В опухолевой ткани и сыворотке крови больных раком, пациенток с пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников исследован спектр основных матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов. В результате проведенного исследования выявлено координированное увеличение тканевой экспрессии и сывороточной концентрации ММП-7 при раке яичников, нарастающее по мере распространения заболевания, что позволяет рассматривать ММП-7 в качестве потенциально значимого серологического маркера рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ

Study of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in patients with ovarian tumors

K.P. Laktionov, N.V. Levkina, D.N. Kushlinsky, E.S. Hershtein

Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

We studied main matrix metalloproteinases (MMP) and their tissue inhibitors in tumors and blood serum of ovarian cancer, benign and borderline tumor patients. We revealed a coordinate increase of MMP-7 tumor expression and serum concentration in ovarian cancer that indicates it's role as potential serological marker for ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer, matrix metalloproteinase, tissue matrix metalloproteinase inhibitors

Введение

Рак яичников (РЯ) — одно из наиболее распространенных и неблагоприятно протекающих заболеваний у женщин, лидирующее по числу смертельных случаев среди новообразований женских половых органов. Злокачественные опухоли яичников (ЗОЯ) составляют 35 % в структуре онкологической заболеваемости женщин и стабильно занимают 3-е место после рака тела и шейки матки [1, 2].

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что прогноз такого агрессивного заболевания, как РЯ, базируется на ранней диагностике и своевременном начале лечения. На сегодняшний день одно из наиболее интересных и перспективных направлений в диагностике ЗОЯ — определение опухолевых маркеров. Несмотря на кажущееся обилие опухолевых маркеров, практически единственным надежным тестом при РЯ, причем в основном при его серозной форме, является определение СА-125. Повышение этого маркера отмечено у большинства первичных больных РЯ. Около 20 % РЯ не экспрессирует или незначительно экспрессирует СА-125, поэтому использование СА-125 в комбинации с другими опухолевыми маркерами повышает специфичность и чувствительность теста [3, 4]. Трудности своевременной диагностики и высокий метастатический и инвазивный потенциал РЯ определяют необходимость углубленного изучения механизмов распространения опухоли, знание

которых позволит индивидуализировать прогноз заболевания, улучшить мониторинг и оптимизировать подходы к назначению неоадьювантной и адьювантной химиотерапии (ХТ).

Одним из возможных механизмов распространения РЯ является непосредственная инвазия или отдаленное метастазирование, в котором важную роль играют ассоциированные с опухолью протеазы, разрушающие внеклеточный матрикс (ВКМ). На сегодняшний день известно несколько классов протеиназ, способных гидролизовать белки ВКМ, важнейшими из которых являются матриксные металлопротеиназы (ММП) — мультигенное семейство, состоящее из более 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинкзависимых эндопептидаз. Помимо большинства компонентов ВКМ, их субстратами могут быть также другие протеазы, хемотаксические молекулы, латентные формы факторов роста, растворимые и мембранно-ассоциированные белки, связывающие факторы роста [5–7]. Важнейшими представителями семейства ММП являются желатиназы А и В, специфические коллагеназы коллагена IV типа (ММП-2 и -9), а также матрилизин — ММП-7, имеющий широкую субстратную специфичность и, помимо коллагена IV, гидролизующий эластин, протеогликаны, фибронектин и др. Матрилизин участвует также в активации предшественников ММП-2 и 9. Результаты проведенных исследований

свидетельствуют о том, что именно эти представители группы ММП служат перспективными маркерами для дифференциальной диагностики различных новообразований яичников и прогноза РЯ [8–10]. Активность ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется четырьмя тканевыми ингибиторами, играющими также важную самостоятельную роль в регуляции роста и дифференцировки опухолевых и нормальных клеток и обладающими антиангиогенными свойствами. Среди тканевых ингибиторов ММП (ТИМП) наиболее значимым маркером РЯ является ТИМП-1 [11, 12].

Цель исследования — оценка клинических перспектив изучения содержания ключевых ММП и их тканевых ингибиторов в опухолях и сыворотке крови больных РЯ.

Материалы и методы

Характеристика больных. В исследование включены 102 пациентки с новообразованиями яичников, проходившие обследование и лечение в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в период с марта 2007 г. по июнь 2010 г. У 24 (23,5 %) из них были выявлены доброкачественные образования яичников, у 11 (9,5 %) — пограничные опухоли и у 67 (67 %) — ЗОЯ. Из 67 больных РЯ 49 были обследованы до начала специфического лечения, а 18 — после ранее проведенной ХТ. В контрольную группу вошли 30 практически здоровых женщин.

Среди доброкачественных новообразований преобладали опухоли серозного и эндометриоидного типа, а также неэпителиальные — опухоли стромы полового тяжа и герминогенные. Возраст больных с доброкачественными опухолями составил 17–76 лет (медиана — 44 года). Пограничные опухоли были отнесены преимущественно к муцинозному типу. Возраст пациенток с этими новообразованиями варьировал от 23 до 63 (медиана — 45) лет.

Возраст больных РЯ составил от 17 до 82 (медиана — 55) лет. В периоде постменопаузы находились 62 % пациенток, в репродуктивном периоде — 36 %. I–II стадии заболевания имели только 31 % больных, а более чем у половины пациенток был диагностирован

распространенный процесс III–IV стадий. По гистологическому строению 75 % опухолей представляли серозные цистаденокарциномы, 2-е место по частоте встречаемости занимали эндометриоидные аденокарциномы — 12 %. Большинство (52 %) обследованных больных были прооперированы с последующим проведением ХТ, 28 % пациенток — прооперированы после получения ХТ, 19 % — оперированы повторно.

Биохимические исследования. Содержание исследуемых белков определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до операции, и лизатах опухолей. Опухолевый материал забирали во время операции и хранили при температуре -70°C до начала исследования. Маркеры определяли с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа: Human/Mouse/Rat MMP-2 (total), Human MMP-7 (total), Human MMP-9 (total), Human TIMP-1 и Human TIMP-2 (Quantikine, R&D Systems, США) — в соответствии с инструкциями производителей. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшет ELX800 (Bio-Tek Instruments Inc., США). Концентрацию исследованных показателей в сыворотке крови выражали в нг/мл, в тканях — в нг/мг общего белка, определенного по методу Лоури.

В статистическом анализе использовали непараметрические критерии: Манна–Уитни — при сравнении двух независимых подгрупп; медианный тест или тест Краскелла–Уоллиса — при сравнении нескольких подгрупп (оценка роли признака в целом); тест корреляции рангов Спирмена (R) при анализе взаимосвязей между различными показателями. Различия и корреляции считали достоверными при $p < 0,05$. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного пакета Statistica 7.0 (StatSoft Inc.).

Результаты и обсуждение

На I этапе статистического анализа полученных данных мы сопоставили содержание исследованных ММП и ТИМП в доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях яичников (табл. 1).

Таблица 1. Содержание ММП-2, ММП-7, ММП-9 и их ТИМП в тканях доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолей яичников

Опухоли яичников	n	Содержание белка, нг/мг				
		ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Доброкачественные (1-я группа)	24	25,4 (5,8–106)	0,9 (0–14,7)	11,4 (0–90)	41,2 (7,2–96,3)	13,2 (5,2–33,8)
Пограничные (2-я группа)	11	8 (4,8–45,6)	7,7 (0,7–15,3)	14,5 (0–174)	71,7 (7,1–177)	12,5 (4,3–79,1)
ЗОЯ (3-я группа)	43	11,9 (1,1–86,7)	3,3 (0–51,8)	18,8 (0–450)	33 (3,6–165)	8,5 (2,7–44,7)

Примечание. Здесь и далее представлены медианы значений (в скобках — диапазоны). ММП-2: $p_{1vs2} = 0,021$; $p_{1vs3} = 0,002$. ММП-7: $p_{1vs3} = 0,012$. ТИМП-1: $p_{2vs3} = 0,018$. ТИМП-2: $p_{1vs3} = 0,012$.

Выявлено достоверное увеличение уровня ММП-7 в ткани при РЯ по сравнению с таковым при доброкачественных и пограничных опухолях, что косвенно подтверждает участие матрилизина в формировании инвазивного потенциала РЯ. Аналогичная тенденция продемонстрирована и для ММП-9, однако для этой протеазы различия не достигали статистической значимости. В то же время для ММП-2 обнаружена противоположная закономерность — ее уровень в доброкачественных опухолях оказался достоверно более высоким, чем в пограничных и злокачественных. Такая особенность ММП-2 согласуется с экспериментальными данными о снижении ее экспрессии в клетках рака по сравнению с данным показателем в нетуморогенных клетках поверхностного эпителия яичников [13, 14], а выявленные закономерности в целом свидетельствуют о различной роли ММП, в том числе и близких по свойствам специфических коллагеназ ММП-2 и ММП-9, в малигнизации опухолей яичников.

По-разному менялась при переходе от доброкачественных опухолей яичников к ЗОЯ и экспрессия двух типов ТИМП: уровень ТИМП-2 в ткани рака был достоверно снижен, а уровень ТИМП-1 был сходным в доброкачественных и злокачественных опухолях, но существенно повышен в пограничных новообразованиях. Закономерности, выявленные для ТИМП-1, согласуются с данными К. Sakata et al. [14], обнаруживших, что диффузное иммуногистохимическое окрашивание на ТИМП-1 было интенсивнее в доброкачественных и пограничных опухолях, чем в аденокарциномах яичников.

Анализ взаимосвязи концентраций исследованных маркеров в ткани РЯ с основными клинико-морфологическими факторами прогноза проводили только в подгруппе из 43 больных, не получавших специфического лечения до операции и взятия материала для исследования (табл. 2), поскольку оказалось, что предоперационное лечение может существенно влиять на некоторые из изучаемых показателей (данные не представлены).

Достоверных различий уровней различных ММП в зависимости от стадии РЯ выявить не удалось, однако уровни ММП-9 в опухолях больных I–II стадий оказались значительно выше, чем таковые в опухолях пациенток с III–IV стадиями. В то же время содержание ТИМП-1 в опухолях при III–IV стадиях было достоверно снижено по сравнению с данным показателем на ранних стадиях. При учете отдельных показателей распространенности РЯ было установлено, что внутриопухолевое содержание ММП-2 и ММП-7 достоверно выше при двустороннем поражении яичников, чем при одностороннем. Противоположная тенденция отмечена для ММП-9, однако эти различия не достигли уровня статистической зна-

чимости. Выраженной взаимосвязи содержания исследуемых маркеров в ткани первичной опухоли с характером диссеминации РЯ по брюшине и наличием и размером метастазов в большом сальнике, а также с локализацией отдаленных метастазов не обнаружено. Тем не менее уровень ММП-7 был достоверно выше в опухолях больных с просовидными очагами в брюшной полости, чем у пациенток с более крупными диссеминатами.

Таким образом, однозначной взаимосвязи, свидетельствующей об увеличении уровня ММП в ткани РЯ по мере распространения опухолевого процесса, не выявлено. В ряде случаев наблюдалось даже снижение уровня некоторых ММП при наиболее распространенном процессе: например, содержание ММП-7 снижалось при массивной диссеминации по брюшине, а содержание ММП-9 — при двустороннем поражении яичников. В связи с этим можно предположить, что продукция ММП в большей степени необходима опухолям на начальных или промежуточных стадиях развития, а при распространенном процессе потребность в протеолитической деградации ВКМ снижается.

Важными факторами, определяющими течение РЯ, являются гистологическое строение и степень дифференцировки опухоли (табл. 3). Как и ожидалось, более половины исследованных нами первичных больных эпителиальным РЯ принадлежали к серозному типу. В опухолях этого гистологического типа отмечено достоверное увеличение уровня ММП-2 и снижение уровня ТИМП-1 по сравнению с таковыми в эндометриоидных и муцинозных новообразованиях. Низкое содержание всех ММП и ТИМП-1 зарегистрировано также при светлоклеточном РЯ. Несмотря на то что распределение опухолей по степени дифференцировки было достаточно равномерным, достоверной взаимосвязи показателей экспрессии ММП и ТИМП со степенью дифференцировки РЯ не обнаружено.

При анализе взаимосвязи исследованных показателей с состоянием репродуктивной функции и некоторыми другими факторами гинекологического анамнеза пациенток была отмечена тенденция к снижению уровня всех маркеров в опухолях больных старшей возрастной группы, находящихся в периоде менопаузы. Это наблюдение косвенно подтверждает тот факт, что у пожилых больных злокачественный процесс протекает, как правило, медленнее и менее агрессивно, чем у молодых.

Таким образом, можно заключить, что четкой ассоциации уровней экспрессии ММП и ТИМП в опухоли с основными клинико-морфологическими факторами неблагоприятного прогноза РЯ не выявлено, однако при дальнейшем наблюдении за обследованными больными данные биомаркеры, возможно, смогут приобрести значение в качестве независимых прогностических факторов, определяющих как течение заболевания

Таблица 2. Содержание ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в опухолях больных РЯ в зависимости от показателей распространенности опухоли

Показатель распространности	n	Содержание белка, нг/мл				
		ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Стадия FIGO:						
Ia–Ic	13	11,1 (1,2–40,7)	4,0 (0,02–51,8)	65,7 (0–450)	57,7 (3,6–165)	9,8 (2,7–14,2)
IIa–IIb	4	30,1 (2,2–46)	1,3 (0–2,6)	131,0 (0–262)	15,0 (14,9–49,6)	44,7
I–II	17	11,9 (1,2–46)	2,6 (0–51,8)	65,7 (0–450)	52,6 ¹ (3,6–165)	10,2 ¹ (2,7–44,7)
IIIa–IIIc	22	11,1 (1,1–86,7)	5,2 (0,6–13,8)	17,6 (0–157)	31,0 (5,2–64,9)	8,3 (3,2–16,8)
IV	5	22,9 (1,1–46,4)	1,0 (0,7–13,8)	10,1 (3,6–164)	27,5 (6,5–43,7)	6,2 (2,8–12)
III–IV	27	12,1 (1,1–86,7)	4,4 (0,6–13,8)	16,8 (0–164)	28,7 ¹ (5,2–64,9)	7,3 ¹ (2,8–16,8)
Размер опухоли по данным УЗИ, см:						
≤ 10 (1)	5	16,6 (2–40,5)	1,6 (0,2–9,4)	56,5 (0,5–239)	40,1 (13,2–77,9)	9,8 (3,2–16,8)
> 10 (2)	12	3,1 ² (1,1–44,8)	1,9 ⁴ (0,2–51,8)	33,3 (0–450)	38,3 (5,2–165)	6,7 (2,8–44,7)
одностороннее поражение (1 + 2)	17	5,0 ³ (1,1–44,8)	1,6 ⁵ (0,2–51,8)	33,3 (0–450)	38,5 (5,2–165)	8,3 (2,7–44,7)
двустороннее поражение (3)	25	15,4 ^{2,3} (2,7–86,7)	6,7 ^{4,5} (0,02–19,7)	14,8 (0–164)	29,9 (3,6–145)	8,7 (2,7–15,3)
Диссеминация по брюшине:						
нет (1)	14	11,9 (2,6–46)	4,3 (0–51,8)	11,6 (0–450)	52,6 (3,6–165)	7,4 (2,7–10,7)
Просовидная (2)	9	13,1 (7,6–86,7)	8,0 ⁶ (2,1–13,8)	17,8 (2,9–137)	41,6 (13,1–57,7)	4,3 (3,2–15,3)
< 2 см (3)	21	11,0 (1,1–84,7)	1,6 ⁶ (0,6–13,8)	12,6 (0–164)	28,1 (5,2–64,9)	8,7 (2,8–44,7)
Метастазы в большой сальник, см:						
Нет	20	13,2 (1,2–46)	2,3 (0–51,8)	25,7 (0–450)	49,6 (3,6–165)	10,2 (2,7–44,7)
< 2	10	11,1 (2,9–86,7)	8,9 (0,7–13,8)	18,4 (0–164)	24,6 (5,2–64,9)	12,0 (3,2–15,3)
2–5	8	9,3 (1,1–55,4)	5,4 (1–8,5)	71,3 (9,4–157)	31,0 (22,8–43,7)	6,4 (2,8–13,8)
панцирный сальник	6	25,0 (1,1–84,7)	2,1 (0,7–13,8)	10,6 (3,6–37,9)	21,8 (6,1–58,8)	6,2 (4,3–10,3)
Асцит, л:						
нет (1)	28	11,1 ⁷ (1,1–55,4)	2,3 (0–51,8)	28,6 (0–450)	39,3 (3,6–165)	6,2 (2,7–44,7)
≤ 5 (2)	12	24,6 ⁷ (1,2–86,7)	4,4 (0,7–13,8)	11,2 (6,8–164)	27,5 (6,1–58,8)	12,9 (4,3–15,3)
> 5 (3)	5	9,0 (1,1–55,4)	2,5 (1,1–9,7)	37,9 (18,4–137)	27,3 (20,5–33)	4,4 (3,2–5,2)
Опухолевые клетки в асците или смыве брюшной полости:						
Есть	29	13,1 (1,1–86,7)	4,4 (0,02–19,7)	18,6 (0–450)	31,0 (3,6–145)	8,3 (2,7–16,8)
Нет	10	15,0 (2,9–46)	1,4 (0–9,4)	105,0 (0–262)	47,3 (5,2–165)	7,0 (4,3–9,8)

Примечание. УЗИ – ультразвуковое исследование. ¹ $p_{I-IIvsIII-IV} = 0,022$; ² $p_{2vs3} = 0,0004$; ³ $p_{(1+2)vs3} = 0,004$; ⁴ $p_{2vs3} = 0,036$; ⁵ $p_{(1+2)vs3} = 0,03$; ⁶ $p_{2vs3} = 0,01$; ⁷ $p_{Ivs2} = 0,038$

Таблица 3. Содержание ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в опухолях больных РЯ в зависимости от гистологического типа опухоли

Гистологический тип	n	Содержание белка, нг/мг				
		ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Серозный (1)	25	16,2 (2–86,7)	4,4 (0,6–13,8)	17,6 (0–164)	28,7 (5,2–64,9)	10,5 (3,2–16,8)
Муциозный (2)	5	2,6 (1,1–11,9)	9,1 (1,3–51,8)	37,9 (2,9–137)	52,0 (33–145)	5,1 (4,3–14,2)
Эндометриозный (3)	5	6,3 (1,1–40,5)	6,4 (1–11,3)	105,0 (9,8–450)	92,0 (43,7–165)	6,3 (2,8–9,8)
Светлоклеточный (4)	3	2,7 (2,2–3,3)	1,6 (1–6,4)	3,6 (2,8–86,5)	14,9 (6,5–30,9)	8,3 (6,2–44,7)
Другой (6)	6	11,1 (8,3–46)	0,2 (0–1,4)	1,3 (0–239)	13,3 (3,6–36,2)	2,7

Примечание. ММП-2: $p_{ivs2} = 0,01$; $p_{ivs3} = 0,065$. ТИМП-1: $p_{ivs2} = 0,029$; $p_{ivs3} = 0,01$.

в целом, так и чувствительность его к отдельным видам лечения.

Одной из важных задач этого исследования было выяснение вопроса о том, в какой мере изменение продукции ММП и ТИМП в опухолевой ткани отражается на их концентрации в периферической крови. В ходе анализа корреляционных взаимосвязей тканевого и сывороточного содержания исследуемых маркеров в общей группе обследованных пациенток были обнаружены не сильные, но достоверные положительные корреляции уровней всех трех ММП в сыворотке крови и опухолевой ткани (для ММП-2 $R = 0,31$, $p = 0,02$, для ММП-7 — $0,29$ и $0,006$, для ММП-9 — $0,24$ и $0,019$), усиливавшиеся для ММП-7 и ММП-9 в группе больных РЯ ($R = 0,35$; $p = 0,022$ и $R = 0,36$; $p = 0,02$ соответственно) и не проявлявшиеся у пациенток с доброкачественными и пограничными новообразованиями яичников. Можно предположить, что у больных РЯ концентрации ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в периферической крови в определенной

степени отражают уровни экспрессии этих белков в опухолевой ткани, а при доброкачественных и пограничных новообразованиях яичников сывороточные ММП скорее всего имеют неопухолевое происхождение.

Другим важным аспектом изучения уровня биологических маркеров в сыворотке крови является возможность использования их для дифференциальной диагностики и/или мониторинга эффекта лечения. При исследовании сыворотки крови нами дополнительно была обследована контрольная группа практически здоровых женщин (табл. 4). Продemonстрировано достоверное увеличение содержания ММП-7 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных РЯ по сравнению с таковым в группе контроля и у пациенток с доброкачественными и пограничными новообразованиями. Содержание ММП-9 в сыворотке крови больных РЯ, обследованных до проведения специфического лечения, также было достоверно выше, чем в группе контроля и у пациенток с доброкачественными опухолями. В то же время уровни

Таблица 4. Содержание ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови пациенток с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями яичников

Группа пациенток	n	Содержание белка, нг/мг				
		ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Контроль (0)	8	281,0 (161–370)	4,4 (2,8–4,7)	330,0 (28,5–647)	322,0 (133–507)	74,5 (39,6–114)
С доброкачественными опухолями (1)	24	218,0 (100–333)	4,3 (1,7–10,4)	287,0 (141–623)	241,0 (46–527)	74,7 (52,6–91,4)
С пограничными опухолями (2)	11	182,0 (138–484)	4,9 (2,6–7,8)	309,0 (138–469)	185,0 (80–557)	85,1 (56,2–139)
С РЯ (3)	58	196,0 (93,1–445)	8,0 (2,4–50,6)	351,0 (58,6–1060)	427,0 (24,8–712)	76,1 (54,3–113)
Первичные (3/1)	45	181,0 (93,1–445)	8,2 (2,5–50,6)	411,0 (109–1060)	395,0 (24,8–712)	76,1 (54,3–113)
После лечения (3/2)	13	203,0 (155–378)	6,9 (2,4–40)	188,0 (58,6–900)	478,0 (292–669)	—

Примечание. ММП-2: $p_{ovs1} = 0,003$; $p_{ovs3} = 0,003$; $p_{ovs2} = 0,04$; $p_{ovs3/1} = 0,003$; $p_{ovs3/2} = 0,049$. ММП-7: $p_{ovs3} = 0,004$; $p_{ivs3} = 0,0003$; $p_{ovs3} = 0,01$; $p_{ovs3/1} = 0,0029$. ММП-9: $p_{ovs3/1} = 0,026$; $p_{3/ivs3/2} = 0,01$. ТИМП-1: $p_{ovs2} = 0,017$; $p_{ovs3} = 0,039$; $p_{ivs3} = 0,004$; $p_{ovs3} = 0,015$; $p_{3/ivs3/2} = 0,027$; $p_{ivs3/1} = 0,042$; $p_{ivs3/2} = 0,0002$; $p_{ovs3/2} = 0,0023$.

Таблица 5. Содержание ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови больных РЯ в зависимости от показателей распространенности опухоли

Показатель распространности	n	Содержание белка, нг/мл				
		ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Стадия FIGO:						
Ia–Ic	15	186,0 (105–248)	5,1 ^{2,3} (3–16,2)	250,0 (123–1060)	261,0 (67,6–567)	61,1 (54,3–113)
IIa–IIb	5	204,0 (134–269)	8,0 ⁴ (2,5–10,4)	428,0 (126–513)	455,0 (98–483)	54,8
I–II	20	269,0 (105–198)	5,3 ¹ (2,5–16,2)	290,0 (123–1060)	341,0 (67,6–567)	59,0 (54,3–113)
IIIa–IIIc	21	171,0 (93,1–445)	11,5 ² (2,9–43,6)	462,0 (109–922)	412,0 (83,3–712)	83,0 (61,3–103)
IV	7	181,0 (139–278)	20,1 ³ (5,4–50,6)	478,0 (206–613)	245,0 (24,8–505)	69,7 (66,4–102)
III–IV	28	176,0 (93,1–445)	131,4 (2,9–50,6)	464,0 (109–922)	395,0 (24,8–712)	81,3 (61,3–103)
Размер опухоли по данным УЗИ, см:						
≤ 10 (1)	7	161,0 (105–240)	4,7 ^{7,8} (3,4–16,2)	438,0 (123–912)	163,0 (83,3–501)	61,3 (54,3–84,1)
> 10 (2)	12	173,0 (134–366)	8,0 ^{6,8} (3–14,7)	33,3 (0–450)	218,0 (67,6–712)	73,0 (54,9–109)
одностороннее поражение (1 + 2)	19	168,0 (105–366)	6,4 ⁵ (3–16,2)	404,0 (109–912)	188,0 (67,6–712)	66,59 (54,3–109)
двустороннее поражение (3)	28	195,0 (93,1–445)	11,4 ^{5,6,7} (2,9–50,6)	440,0 (146–1060)	412,0 (24,8–654)	88,19 (57–113)
Диссеминация по брюшине:						
нет (1)	15	199,0 (140–269)	5,1 ^{10,11} (2,5–16,8)	290,0 ^{12,13} (109–1060)	341,0 (67,6–567)	59,0 (54,3–113)
просовидная (2)	10	192,0 (105–445)	12,9 ¹⁰ (3,8–32,8)	539,0 ¹² (206–872)	465,0 (215–603)	72,7 (69,8–88,9)
< 2 см (3)	21	171,0 (93,1–371)	10,3 ¹¹ (2,9–50,6)	460,0 ¹³ (109–9224)	282,0 (24,8–712)	83,0 (54,9–109)
Метастазы в большой сальник, см:						
нет (1)	24	186,0 (105–269)	5,3 ^{14,15,16} (2,5–16,8)	290,0 (109–1060)	261,0 (67,6–567)	61,2 (54,3–113)
< 2 (2)	9	230,0 (123–445)	15,3 ¹⁵ (7,4–50,6)	464,0 (206–688)	350,0 (215–589)	72,7 (69,7–88,9)
2–5 (3)	9	178,0 (93,1–337)	10,6 ¹⁶ (2,9–32,8)	491,0 (343–922)	420,0 (184–654)	73,0 (63,7–96)
панцирный сальник (4)	7	176,0 (139–371)	11,2 ¹⁴ (5,4–47,2)	275,0 (181–743)	361,0 (24,8–712)	96,3 (66,4–113)
Асцит, л:						
нет (1)	32	174,0 (105–337)	6,7 ¹⁷ (2,5–26,8)	347,0 (109–1060)	330,0 (24,8–654)	66,5 (54,3–113)
≤ 5 (2)	12	181,0 (93,1–445)	14,1 ¹⁷ (5,7–50,6)	460,0 (181–872)	305,0 (192–523)	88,5 (63,7–109)
> 5 (3)	5	215,0 (123–366)	11,5 (8,7–32,8)	464,0 (354–743)	505,0 (215–712)	83,0 (69,8–96)
Опухолевые клетки в асците или смыве брюшной полости:						
Есть	32	187,0 (93,1–445)	10,4 ¹⁸ (2,9–50,6)	471,0 (109–1060)	350,0 (24,8–712)	83,0 (57–113)
Нет	12	172,0 (105–249)	4,6 ¹⁸ (2,5–16,26)	397,0 (206–912)	469,0 (166–589)	63,4 (54,3–72,7)

Примечание. $^1p_{(1+2)vs(3+4)} = 0,00025$; $^2p_{Ivs3} = 0,003$; $^3p_{Ivs4} = 0,004$; $^4p_{2vs4} = 0,048$; $^5p_{(1+2)vs3} = 0,000002$; $^6p_{2vs3} = 0,039$; $^7p_{Ivs3} = 0,035$; $^8p_{Ivs2} = 0,004$; $^9p_{(1+2)vs3} = 0,029$; $^{10}p_{Ivs2} = 0,001$; $^{11}p_{Ivs3} = 0,01$; $^{12}p_{Ivs2} = 0,027$; $^{13}p_{Ivs3} = 0,01$; $^{14}p_{Ivs4} = 0,0005$; $^{15}p_{Ivs2} = 0,02$; $^{16}p_{Ivs3} = 0,01$; $^{17}p_{Ivs2} = 0,01$; $^{18}p = 0,015$.

ММП-2 в сыворотке крови больных РЯ и пациенток с пограничными опухолями яичников были достоверно ниже, чем в группе контроля, а у больных с доброкачественными новообразованиями яичников достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Это соотношение соответствует закономерностям, выявленным для опухолевых тканей.

При сравнении показателей сыворотки крови больных РЯ, обследованных до и после проведения специфического лечения, было установлено, что после лечения происходит относительная нормализация показателей ММП-2 и ММП-9: в первом случае — повышение, а во втором — снижение уровня маркера.

В целом анализ содержания ММП и ТИМП в сыворотке крови показал, что наиболее перспективным маркером для дифференциальной диагностики пограничных, доброкачественных и злокачественных новообразований яичников является ММП-7. Уровень этого маркера повышен относительно контроля только у больных РЯ. Превышение верхней границы нормы (4,67 нг/мл), соответствующей специфичности 95 %, отмечено у 38 из 49 первичных больных РЯ, т. е. чувствительность относительно группы контроля составляет 78 %.

ММП-7 оказалась и самым значимым маркером при анализе взаимосвязи показателей сыворотки кро-

ви с клинико-морфологическими особенностями РЯ (табл. 5). Ее уровень достоверно положительно коррелировал с ключевыми показателями распространенности РЯ — стадией заболевания в целом, размером первичной опухоли, по данным УЗИ, наличием и характером диссеминации по брюшине и метастазов в большом сальнике, наличием и количеством асцита. Кроме того, только уровень этой ММП положительно коррелировал с показателями классического сывороточного маркера РЯ СА-125.

Выводы

Проведенное нами иммуноферментное исследование содержания нескольких ММП и ТИМП в опухолевой ткани, сыворотке крови и асцитической жидкости больных РЯ и пациенток с пограничными и доброкачественными новообразованиями яичников показало координированное увеличение тканевой экспрессии и сывороточной концентрации ММП-7 при РЯ, нарастающее по мере распространения заболевания. Противоположная направленность изменений обнаружена для другой ММП — ММП-2. В меньшей степени были выражены изменения в показателях содержания ММП-9 и ТИМП 1-го и 2-го типа. Наиболее значимым маркером РЯ следует признать ММП-7 (матрилизин).

ЛИТЕРАТУРА

1. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ (состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность). Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. Вестн РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2009;20 (3 Прил 1):52–122.
2. Жордания К.И. Злокачественные новообразования яичников. Энциклопедия клинической онкологии. М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2004. С. 356–8.
3. Кадагидзе З.Г., Шелепова В.М. Роль опухолеассоциированных антигенов в диагностике онкогинекологических заболеваний. В кн.: Клиническая онкогинекология. Руководство для врачей. Под ред. В.П. Козаченко. М.: Медицина, 2005. С. 49–61.
4. Visintin I., Feng Z., Longton G. et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer. Clin Cancer Res 2008;14(4):1065–72.
5. Deryugina E.I., Quigley J.P. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. Biochim Biophys Acta 2010;1803(1):103–20.
6. Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer 2002;2(3):161–74.
7. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res 2003;92(8):827–39.
8. Sillanpaa S., Anttila M., Suhonen K. et al. Prognostic significance of extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase 2 in epithelial ovarian cancer. Tumour Biol 2007;28(5):280–9.
9. Sillanpaa S., Anttila M., Voutilainen K. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol 2007;104(2):296–303.
10. Sillanpaa S., Anttila M., Voutilainen K. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in epithelial ovarian cancer and its relation to beta-catenin expression. Int J Cancer 2006;119(8):1792–9.
11. Goldman S., Shalev E. MMPs and TIMPs in ovarian physiology and pathophysiology. Front Biosci 2004;9: 2474–83.
12. Huang L.W., Garrett A.P., Bell D.A. et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors. Gynecol Oncol 2000;77(3):369–76.
13. Kenny H.A., Lengyel E. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis. Cell Cycle 2009;8(5):683–8.
14. Sakata K., Shigemasa K., Nagai N., Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary. Int J Oncol 2000;17(4):673–81.