



Дорогие читатели!

Поиск, исследование и практическое использование определения опухолевых маркеров – молекул, отличающих опухолевую клетку от нормальной и помогающих в диагностике опухолей и наблюдении за ходом болезни, – имеют уже более чем полувековую историю. Первоначальные надежды на то, что опухолевая клетка может синтезировать какие-то новые белки, не свойственные ни одной из нормальных тканей, не оправдались, однако обнаружено множество молекул, которые либо вырабатываются опухолевыми клетками в значительно больших количествах, чем нормальными, либо продуцируются ими эктопически, часто в результате дедифференцировки и активации эмбриональных процессов. В результате длительных исследований и тщательного отбора лишь некоторые из этих молекул стали классическими серологическими маркерами для дифференциальной диагностики и мониторинга различных злокачественных новообразований, но без их исследования уже нельзя представить современный диагностический и лечебный процесс.

Несколько позднее внимание исследователей привлекли тканевые (клеточные или молекулярные) маркеры, характеризующие индивидуальные особенности опухоли, специфику ее «биологического поведения» и регуляции и определяемые непосредственно в опухолевой ткани или субклеточных фракциях. В клинической практике исследование биологических маркеров должно было либо прогнозировать течение болезни на ранних стадиях, либо помочь в назначении специфического лечения. И действительно, успехи в этой области исследований и современный уровень знаний о молекулярных механизмах возникновения и развития опухолей, их чувствительности или резистентности к различным препаратам и воздействиям уже позволили в некоторых случаях осуществить переход от усредненных стандартных схем терапии к так называемой, персонализированной медицине, т. е. назначению лечения в соответствии с индивидуальными особенностями больного и биологическими характеристиками опухоли. Особенно актуальным исследование биологических маркеров опухолей стало в последние годы, после появления и бурного развития так называемой таргетной терапии – использования препаратов, специфически подавляющих активность конкретных регуляторных молекул.

В настоящем номере журнала обобщены результаты многолетних исследований сотрудников Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, посвященных предклиническому изучению и внедрению в клиническую практику новых биологических маркеров опухолей, характеризующих такие их фундаментальные свойства, как неограниченная пролиферация, инвазия и метастазирование, способность противостоять апоптозу, чувствительность к внешним и эндогенным регуляторам. Многие из этих исследований (например, изучение рецепторов эпидермального фактора роста и их эффекторных белков) были начаты задолго до появления в клинике препаратов, мишенями которых они являются.

Большое внимание уделено опухолеассоциированным протеазам, в первую очередь семейству матриксных металлопротеиназ и системе активации плазминогена – ключевым регуляторам процессов инвазии и метастазирования и значимым факторам прогноза при различных онкологических заболеваниях, а также проблеме опухолевого ангиогенеза, его роли в патогенезе и прогрессии опухолей и современному состоянию антиангиогенной терапии.

Один из интереснейших разделов посвящен анализу современных представлений о механизмах гормонорезистентности опухолей и возможных путях их преодоления. Кроме того, представлен многообразный опыт изучения тканевых маркеров в оценке клинического течения и прогноза ряда онкологических заболеваний.

Детальное и иллюстративное представление собственных данных сочетается с анализом современной литературы по рассматриваемым вопросам, поэтому данный номер журнала «Клиническая лабораторная диагностика» не только представляет несомненный интерес для исследователей и клиницистов, но и может служить учебным пособием для студентов медицинских вузов и биологических факультетов.

Директор Российского онкологического
научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН
академик РАН



М.И. Давыдов

БИОМАРКЕРЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ПАТОЛОГИИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.348-006.04-07:577.2.08

Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, В.В. Пророков, Н.Е. Кушлинский

АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОПУХОЛЮ ПРОТЕАЗЫ – ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва

Проанализирована взаимосвязь содержания опухолеассоциированных протеаз: компонентов системы активации плазминогена (uPA, tPA и PAI-1), матриксных металлопротеиназ (ММП) 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора (ТИМП) 1-го типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки (РТК) с выживаемостью пациентов для оценки возможного клинического значения определения этих маркеров при данном заболевании. Исследование включало 2 группы пациентов, прослеженных в течение 5 и 10 лет, у которых ранее иммуноферментными методами были определены уровни вышеуказанных белков в плазме крови и/или опухоли. Показано, что значимым, но не независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных РТК является высокое (≥ 4 нг на 1 мг белка) содержание PAI-1 в опухоли, при этом роль этого маркера достоверно выражена преимущественно у больных в III стадии. Высокие предоперационные уровни ММП-7 и ТИМП-1 в плазме крови (пороговые значения 4 и 347 нг/мл соответственно) являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза РТК, а при однофакторном анализе неблагоприятное прогностическое значение имеет также высокий ($\geq 7,8$ нг на 1 мг белка) уровень ММП-7 в опухоли больных с диссеминированным процессом.

Ключевые слова: uPA; tPA; PAI-1; MMP-2; MMP-7; MMP-9; TIMP-1; рак толстой кишки; прогноз

Одним из наиболее перспективных подходов к индивидуализации и повышению эффективности лечения онкологических больных является в настоящее время определение молекулярных маркеров опухолей, характеризующих их фундаментальные свойства и особенности биологического поведения. РТК занимает одно из лидирующих мест в структуре заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний, часто диагностируется на достаточно поздних стадиях, требующих не только хирургического, но и адъювантного лечения, поэтому многие исследователи связывают дальнейший прогресс в улучшении результатов его лечения с разработкой принципиально новых патогенетических методов терапии, основанных на современных достижениях в изучении биохимии и молекулярной биологии опухолей.

Важной особенностью злокачественных опухолей является их способность к инвазии в окружающие ткани и метастазированию в отдаленные органы. Оба этих процесса неразрывно связаны с разрушением окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса (ВКМ) ассоциированными с опухолью протеазами. В опухолевой инвазии задействовано несколько классов протеаз, к важнейшим из которых следует отнести семейство ММП или матриксинов, названных так за свою способность специфически гидролизовать все основные белки ВКМ, а также активирующий ММП протеолитический каскад активации плазминогена, включающий активаторы урокиназного (uPA) и тканевого (tPA) типов. Важную роль в регуляции инвазии и метастазирования играют также природные ингибиторы этих протеаз: тка-

невые ингибиторы ММП (ТИМП) и ингибиторы активаторов плазминогена – PAI-1 и PAI-2.

Для многих ММП и ТИМП продемонстрировано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза, причем активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретруемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы. В связи с этим различные представители семейства ММП рассматриваются в настоящее время в качестве возможных биологических маркеров прогноза и лекарственной чувствительности злокачественных опухолей, в частности РТК [1–9], а использование природных и синтетических ингибиторов ММП считается перспективным подходом к противоопухолевой терапии [1, 10]. В клинко-лабораторных исследованиях продемонстрирована экспрессия uPA и PAI-1 в клетках РТК [11–14], а также присутствие растворимого рецептора uPA в сыроворотке крови больных РТК [15–17]. Показано, что uPA участвует в формировании сети новых сосудов в опухолях толстой кишки [12]. Имеются также указания на то, что наличие положительного иммуногистохимического окрашивания или высокая концентрация PAI-1 или uPA в опухолях больных РТК при количественном определении являются факторами неблагоприятного прогноза [18–21].

Ранее мы определили иммуноферментным методом содержание uPA, PAI-1 и tPA в опухолях и двух удаленных участках гистологически неизменной слизистой толстой кишки 80 больных РТК и проанализировали взаимосвязь этих показателей с клинко-морфологическими особенностями заболевания [22]. Исследование проводили проспективно, поэтому оценка роли изученных маркеров в прогнозе заболевания в то время была невозможна, однако в настоящее время большинство обследованных пациентов прослежены на протяжении более 10 лет. В более поздних сравнитель-

Для корреспонденции:

Герштейн Елена Сергеевна, д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клин. биохимии

Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24

E-mail: esgerstein@gmail.com

ных иммуноферментных исследованиях мы показали, что у 70–90% больных РТК достоверно повышено содержание ключевых ММП, ТИМП-1 и ТИМП-2 в опухолях по сравнению с окружающей гистологически неизменной слизистой, а концентрация некоторых из этих белков повышена также и в плазме крови пациентов по сравнению с контролем [23–26]. Сейчас эти больные прослежены на протяжении более 5 лет.

Цель данного исследования – анализ взаимосвязи содержания ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1 в опухолях и плазме крови, а также уровня экспрессии uPA, tPA и PAI-1 в опухоли больных РТК с показателями выживаемости пациентов и оценка возможного клинического значения определения данных маркеров при колоректальном раке.

Материалы и методы. В исследование вошли 2 группы больных РТК:

1-я группа – 67 из 80 пациентов, лечившихся в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в 2000 г., у которых было определено содержание uPA, PAI-1 и tPA в опухолях и гистологически не измененной слизистой толстой кишки с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа, разработанных в Католическом университете г. Наймеген (Нидерланды) [22]. В эту группу вошло 38 мужчин и 29 женщин в возрасте от 38 до 78 лет (медиана – 62 года). Рак прямой кишки был диагностирован у 37, рак ободочной кишки – у 30. У 2 больных была I, у 4 – II, у 47 – III и у 18 – IV стадия заболевания. Всем больным были выполнены различные виды оперативного вмешательства, 26 из них получили предоперационное облучение в режиме крупного фракционирования (СОД 25 Гр). Они были прослежены в течение 6–134 мес (медиана 59 мес) после операции.

2-я группа – 99 больных (50 мужчин и 49 женщин) в возрасте от 37 до 80 лет (медиана 61 год), прооперированных в отделении проктологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в 2005–2008 гг., у которых в экстрактах опухолей и участков гистологически не измененной слизистой толстой кишки, а также в плазме крови, полученной до начала лечения и через 5–27 дней после операции, определено содержание ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1 стандартными наборами для прямого иммуноферментного анализа серии Quantikine® ("R&D Systems", США) [23–25]. В этой группе рак прямой кишки был диагностирован у 35, рак ободочной кишки – у 64 больных. У 6 больных была I, у 38 – II, у 27 – III и у 28 – IV стадия заболевания. Все больные с I–III стадией заболевания оперированы в радикальном объеме. Больным с IV стадией были выполнены преимущественно циторедуктивные операции. Эти пациенты прослежены в течение 6–66 мес (медиана 25,6 мес).

Выживаемость пациентов в однофакторном анализе оценивали методом Каплана–Мейера (при сравнении кривых использовали F-тест Кокса), использовали также регрессионную многофакторную модель Кокса. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение. Анализ взаимосвязи содержания компонентов системы активации плазминогена в опухолях и неизменной слизистой толстой кишки с основными клинико-морфологическими особенностями РТК, проведенный ранее [22], показал, что содержание активаторов плазминогена и PAI-1 в опухолях и окружающей неизменной слизистой толстой кишки не зависит от ключевых клинико-морфологических особенностей РТК. Однако это не исключало потенциальной роли исследованных маркеров в качестве независимых факторов прогноза выживаемости больных. Для проверки этой гипотезы пациенты были прослежены в течение более 10 лет после операции и разделены на группы в зависимости от концентрации изучаемых белков в опухолевой ткани. Показатель общей 5-летней выживаемости в общей группе пациентов составил 56%, 10-летней – 49% (медиана выживаемости 107 мес). В качестве пороговых значений первоначально рассматривали по два уровня для каждого маркера: показатель медианы и показатель верхнего квартиля концентрации в опухоли. Для uPA эти величины составили соответственно 1,38 и 2,91 нг/мг белка, для PAI-1 – 2 и 3,17 нг/мг белка, для tPA – 1,27 и 1,93 нг/мг белка. В общей группе пациентов достоверного влияния на общую выживаемость ни для одного из исследуемых маркеров не обнаружено, однако выявлена выраженная тенденция к улучшению выживаемости пациентов с уровнем PAI-1 в опухоли ниже верхнего квартиля: 10-летняя выживаемость в этой группе составила 55%, а у пациентов с более высоким уровнем маркера – 27% ($p=0,065$).

Далее мы отдельно проанализировали взаимосвязь изучаемых показателей с выживаемостью больных с различными клиническими стадиями. В прослеженную группу вошло всего 2 пациента с I стадией заболевания и 4 – со II стадией, все они оставались живы в течение всего периода наблюдения. 5-летняя выживаемость больных III стадии составила 65%, 10-летняя – 52% (медиана не достигнута). У больных IV стадии как 5-, так и 10-летняя выживаемость составила 30%, медиана – 25 мес. Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о достоверном влиянии на показатели общей выживаемости больных РТК в III стадии только уровня PAI-1 в опухоли: при содержании этого маркера, равном или выше верхнего квартиля, 10-летняя выживаемость па-

Таблица 1

Показатели общей выживаемости больных раком толстой кишки III стадии в зависимости от содержания компонентов системы активации плазминогена в опухоли

Группа	Число больных	Число умерших	Максимальный срок наблюдения, мес	5-летняя выживаемость, %	10-летняя выживаемость, %	Медиана выживаемости, мес	<i>p</i>
uPA < 2,91 нг/мг белка	26	12	128	56	51	Н/д	0,40
uPA ≥ 2,91 нг/мг белка	13	6	134	76	46	105	
PAI-1 < 3,17 нг/мг белка	27	9	131	68	62	Н/д	0,031
PAI-1 ≥ 3,17 нг/мг белка	12	9	134	50	25	63	
tPA < 1,93 нг/мг белка	34	15	134	63	53	Н/д	0,94
tPA ≥ 1,93 нг/мг белка	7	3	130	72	54	Н/д	

Примечание. Н/д – не достигнута.

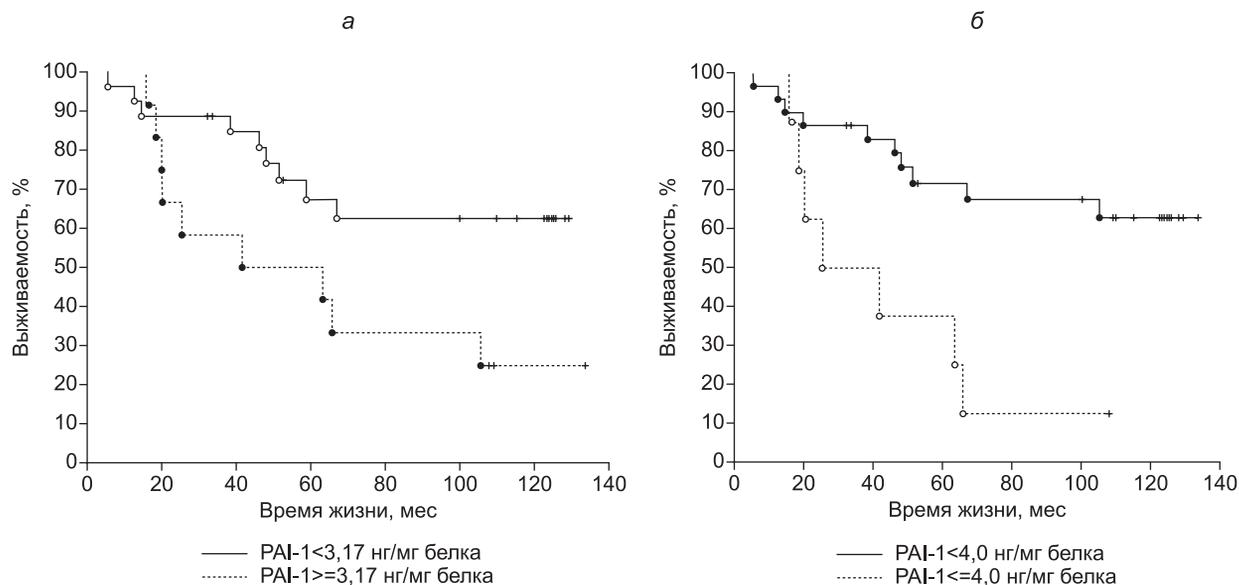


Рис. 1. Общая выживаемость больных РТК III стадии в зависимости от уровня PAI-1 в опухоли. *а* – в качестве порогового значения использована величина верхнего квартиля показателей опухоли; *б* – в качестве порогового значения использована величина верхней границы нормы.

циентов была более, чем вдвое меньше, чем у пациентов с меньшим уровнем PAI-1 (рис. 1, *а*). При этом если во всех остальных подгруппах медиана выживаемости либо не была достигнута за весь период наблюдения, либо превышала 100 мес, то в подгруппе больных РТК в III стадии с уровнем PAI-1 3,17 нг/мг белка, она составила всего 63 мес. Выживаемость больных РТК в IV стадии достоверно не зависела от уровней экспрессии компонентов системы активации плазминогена в опухоли.

Дополнительно проанализировали показатели общей выживаемости больных с использованием в качестве пороговых значений уровней uPA и PAI-1, соответствующих верхней границе нормы (95% показателей неизменной слизистой; в обоих случаях – 4 нг/мг белка). Достоверных различий в зависимости от уровней uPA и в этом случае выявлено не было, а для PAI-1 выживаемость больных с

высоким и низким уровнем маркера в опухоли различалась еще больше, чем при пороговом значении 3,17 нг/мг белка. При III стадии РТК 10-летняя выживаемость в подгруппе пациентов с низким уровнем PAI-1 составила 63%, а в подгруппе с высоким содержанием маркера в опухоли – всего 12%, медиана – 42 мес (рис. 1, *б*; $p=0,004$). При IV стадии РТК достоверных различий и при этом пороговом значении не обнаружено.

Поскольку в литературе представлены данные о том, что определенное влияние на выживаемость больных РТК может оказывать содержание компонентов системы активации плазминогена не только в опухоли, но и в окружающей неизменной слизистой [13] или соотношение различных показателей в опухоли и слизистой [27], мы провели соответствующий анализ, используя в качестве пороговых значений медианные уровни со-

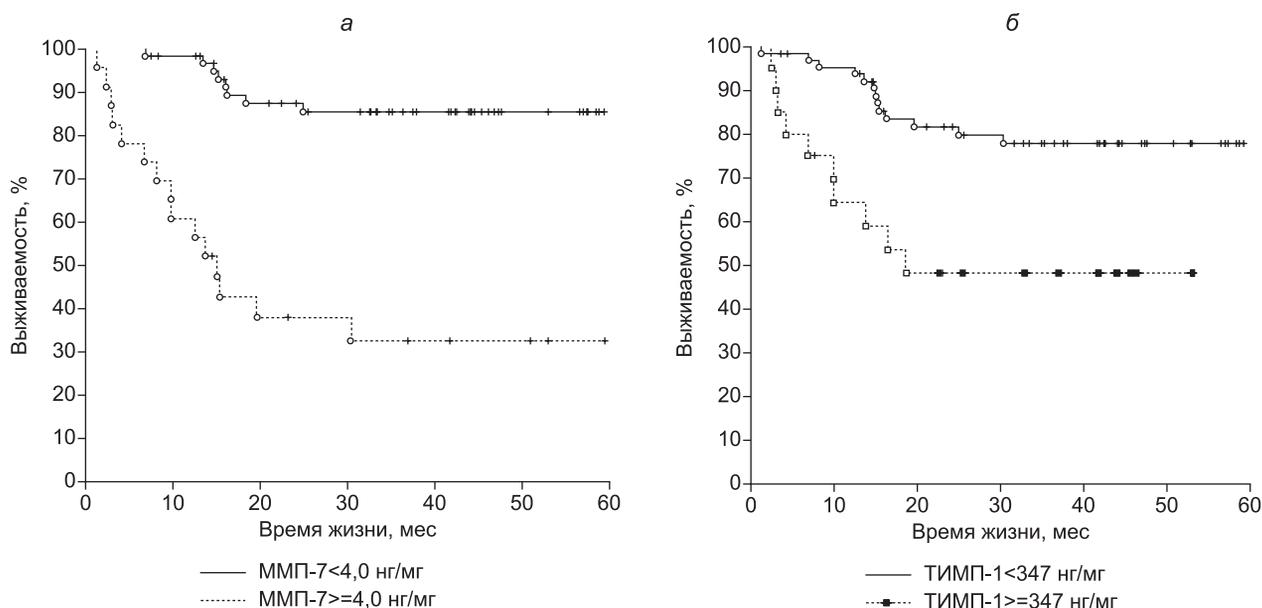


Рис.2. Выживаемость больных РТК в зависимости от уровня MMP-7 (*а*) и TIMP-1 (*б*) в плазме крови.

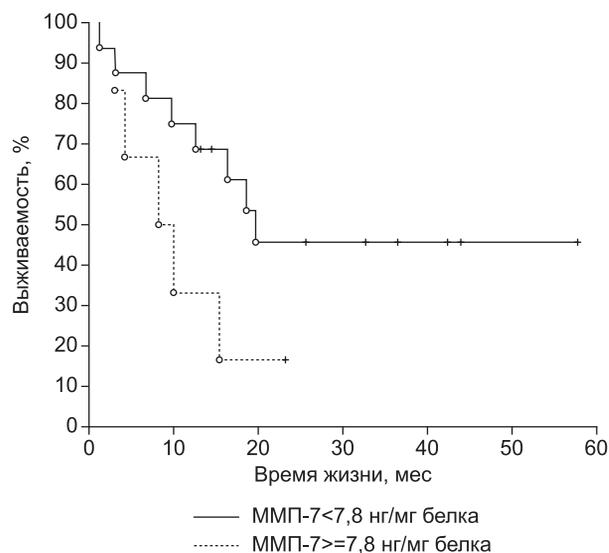


Рис. 3. Выживаемость больных диссеминированным РТК в зависимости от уровня ММП-7 в опухоли.

ответствующих белков в неизменной слизистой. Достоверного влияния на выживаемость ни для одного из проанализированных параметров не обнаружено, однако как в общей группе пациентов, так и у больных РТК в III стадии выявлена выраженная тенденция к ухудшению выживаемости при низком (< 0,24 нг/мл белка) уровне uPA в неизменной слизистой. Аналогичная закономерность продемонстрирована в работе [13]. Соотношение уровней экспрессии uPA и tPA в самой опухоли, а также их соотношение в опухоли и неизменной слизистой толстой кишки не оказывали влияния на выживаемость обследованной нами группы больных.

При многофакторном анализе, включавшем основные клинико-морфологические характеристики РТК и исследованные биохимические показатели, прогностическое значение PAI-1 не сохранилось, независимыми прогностическими факторами оказались только стадия заболевания и степень дифференцировки опухоли.

При обследовании 2-й группы пациентов измеримые количества ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1 были обнаружены во всех образцах опухолей и гистологически не измененной слизистой толстой кишки [23, 24]. Их содержание было высокодостоверно повышено в опухолях по сравнению с неизменной слизистой у 83–92% больных. Кроме того, в плазме крови больных РТК до хирургического вмешательства содержание ММП-7 было достоверно повышено по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$; медианы 1,1 и 2,7 нг/мл соответственно), а содержание ТИМП-1 – достоверно снижено (медианы соответственно 322 и 244 нг/мл; $p < 0,0001$) [25, 26].

Для оценки прогностической значимости исследованных маркеров мы проанализировали результаты 5-летнего наблюдения за обследованными пациентами с учетом содержания изучаемых белков в опухоли и плазме крови. Всего за это время умерли 24 из 99 больных, 5-летняя выживаемость составила 76,8%, медиана выживаемости достигнута не была. Для 54 пациентов удалось получить информацию о наличии или отсутствии рецидива. Всего было зарегистрировано 13 рецидивов (5-летняя выживаемость 70%), что было недостаточным для дальнейшего статистического анализа безрецидивной выживаемости в большинстве подгрупп.

Учитывая результаты анализа прогностической значимости компонентов системы активации плазминогена, в качестве дискриминационных уровней для оценки влияния ММП/ТИМП на общую выживаемость пациентов были выбраны показатели верхних квартилей исследованной выборки. Оказалось, что уровень экспрессии данных маркеров в опухоли (пороговые значения: ММП-2 – 54,4; ММП-7 – 7,8; ММП-9 – 169; ТИМП-1 – 169 нг/мл белка) достоверно не влиял на общую выживаемость в общей группе пациентов, однако высокодостоверное влияние на выживаемость больных РТК оказывали показатели ММП-7 (рис. 2, а; $p=0,00001$) и ТИМП-1 (рис. 2, б; $p=0,009$) в плазме крови, взятой до хирургического вмешательства. При этом высокие уровни обоих маркеров являются факторами неблагоприятного прогноза: при содержании ММП-7, равном или выше 4 нг/мл, 5-летняя выживаемость пациентов составила 32,6% (медиана – 15 мес), а при более низком уровне этого маркера – 85,8% для ТИМП-1 соответствующие показатели в подгруппах с высоким и низким уровнем маркера (пороговое значение 347 нг/мл) составили 48,5% (медиана 18,3 мес) и 77,6%. Таким образом, при анализе всей группы пациентов без учета их клинико-морфологических особенностей наиболее значимым прогностическим фактором оказался предоперационный уровень ММП-7 в плазме крови.

Далее мы проанализировали, каким образом концентрация ММП и ТИМП в плазме крови и опухоли влияет на выживаемость в группах пациентов с различной распространенностью опухолевого процесса: 1-я – пациенты без метастазов ($T_{1-4}N_0M_0$; 41 человек); 2-я – больные с метастазами только в лимфатические узлы ($T_{1-4}N_+M_0$; 23); 3-я – больные с диссеминированным процессом ($T_{1-4}N_0M_+$; 23).

В 1-й группе общая 5-летняя выживаемость пациентов составила 91%. При исследовании взаимосвязи с маркерами достоверные различия выявлены только для подгрупп с различным уровнем ММП-7 в плазме крови, причем куму-

Таблица 2

Результаты многофакторного анализа 5-летней выживаемости 99 больных РТК с использованием регрессионной модели Кокса

Параметр	β	Стандартная ошибка	t	p
Стадия	-0,008	0,01	-0,69	0,49
T	-0,49	0,47	-1,05	0,29
N	1,02	0,83	1,22	0,22
M	1,39	0,71	1,97	0,05
Степень дифференцировки опухоли	0,004	0,04	0,09	0,93
Локализация опухоли	1,10	0,72	1,53	0,13
ММП-7 в опухоли	0,65	0,57	1,14	0,25
ММП-7 норма	-0,07	0,69	-0,11	0,91
ММП-7 в плазме	1,50	0,67	2,24	0,02
ММП-9 в опухоли	-0,75	0,68	-1,11	0,27
ММП-9 норма	0,92	0,76	1,22	0,22
ММП-9 в плазме	-0,39	0,82	-0,47	0,64
ТИМП-1 в опухоли	-0,18	0,64	-0,28	0,78
ТИМП-1 норма	0,34	0,69	0,50	0,62
ТИМП-1 в плазме	1,58	0,58	2,73	0,006

лятивная 5-летняя выживаемость больных с низким содержанием ММП-7 составила 100%, а выживаемость пациентов с высоким уровнем маркера – всего 60% ($p=0,0003$). В этой подгруппе удалось продемонстрировать также влияние уровня ММП-7 в плазме крови на безрецидивную выживаемость: в подгруппе с уровнем маркера менее 4 нг/мл она составила 75%, а в подгруппе с высоким уровнем ММП-7 – всего 40% с медианой 15 мес.

Во 2-й группе (общая выживаемость 74%) ни один из маркеров не оказывал значимого влияния на выживаемость. В то же время выживаемость больных с диссеминированным РТК зависела не только от уровня ММП-7 и в плазме крови, но и от содержания этой протеазы в опухоли. В подгруппе с низким содержанием ММП-7 в опухоли (менее 7,8 нг/мг белка) медиана выживаемости составила 19,6 мес, а при уровне ММП-7 выше этого значения – всего 9,2 мес (рис. 3; $p=0,03$). Все пациенты с высокой концентрацией ММП-7 в плазме крови умерли или были из наблюдения в течение первых двух лет после циторедуктивной операции и их кумулятивная 2-летняя выживаемость составила всего 12% (медиана 8 мес), а выживаемость пациентов с низкой концентрацией ММП-7 в плазме составила 65% ($p=0,007$) и приближалась к показателям радикально оперированных больных без отдаленных метастазов. У больных диссеминированным РТК проявилось также прогностическое значение содержания ТИМП-1 в плазме крови: при низком уровне маркера медиана выживаемости не была достигнута, а при высоком она составила всего 10 мес, 2-летняя выживаемость – соответственно 57 и 11% ($p=0,01$). В целом 5-летняя выживаемость обследованных больных диссеминированным РТК составила 37%, медиана – 17 мес.

При многофакторном анализе, включавшем стадию заболевания, локализацию, гистологическое строение (степень дифференцировки), глубину инвазии опухоли, наличие лимфогенных или отдаленных метастазов, а также все исследованные биохимические показатели, уровни ММП-7 и ТИМП-1 в плазме крови оказались независимыми факторами прогноза общей выживаемости больных РТК наряду с показателем отдаленного метастазирования М (табл. 2).

Заключение. Анализ взаимосвязи содержания нескольких ключевых ММП и их тканевого ингибитора 1-го типа в опухолях и плазме крови больных РТК, а также внутриопухолевого содержания основных компонентов системы активации плазминогена с выживаемостью больных РТК показал возможность использования некоторых из исследованных показателей для прогноза течения заболевания и корректировки тактики лечения пациентов. Так, продемонстрировано, что высокий уровень ММП-7 в плазме крови свидетельствует о неблагоприятном прогнозе РТК даже при отсутствии лимфогенных и отдаленных метастазов и эти больные требуют более тщательного наблюдения и, возможно, адъювантного лечения, несмотря на отсутствие клинических показаний. В то же время низкий уровень ММП-7 как в плазме крови, так и в опухоли свидетельствует об относительно благоприятном прогнозе выживаемости больных с диссеминированным РТК. В целом, уровни ММП-7, а также ТИМП-1 в плазме крови являются независимыми факторами прогноза общей выживаемости больных РТК наряду с показателем отдаленного метастазирования. Значимым, но не независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных РТК оказалось и высокое содержание PAI-1 в опухоли, роль этого фактора наиболее выражена у больных в III стадии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zucker S., Vacirca J. Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004; 23 (1-2): 101–17.
2. Collins H.M., Morris T.M., Watson S.A. Spectrum of matrix metalloproteinase expression in primary and metastatic colon cancer: relationship to the tissue inhibitors of metalloproteinases and membrane type-1-matrix metalloproteinase. *Br J Cancer.* 2001; 84 (12): 1664–70.
3. Chan C.C., Menges M., Orzechowski H.D., Orendain N., Pistorius G., Feifel G., Zeitz M., Stallmach A. Increased matrix metalloproteinase 2 concentration and transcript expression in advanced colorectal carcinomas. *Int. J. Colorectal Dis.* 2001; 16 (3): 133–40.
4. Damodharan U., Ganesan R., Radhakrishnan U.C. Expression of MMP2 and MMP9 (gelatinases A and B) in human colon cancer cells. *Appl Biochem. Biotechnol.* 2011; 165 (5-6): 1245–52.
5. Higashiguchi T., Hotta T., Takifuji K., Yokoyama S., Matsuda K., Tominaga T., Oku Y., Yamaue H. Clinical impact of matrix metalloproteinase-7 mRNA expression in the invasive front and inner surface of tumor tissues in patients with colorectal cancer. *Dis. Colon Rectum.* 2007; 50 (10): 1585–93.
6. Hong S.W., Kang Y.K., Lee B., Lee W.Y., Jang Y.G., Paik I.W., Lee H. Matrix metalloproteinase-2 and -7 expression in colorectal cancer. *J. Korean Soc. Coloproctol.* 2011; 27 (3): 133–9.
7. Hurst N.G., Stocken D.D., Wilson S., Keh C., Wakelam M.J., Ismail T. Elevated serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) concentration predicts the presence of colorectal neoplasia in symptomatic patients. *Br. J. Cancer.* 2007; 97 (7): 971–7.
8. Islekel H., Oktay G., Terzi C., Canda A.E., Fuzun M., Kupelioglu A. Matrix metalloproteinase-9,-3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables. *Cell. Biochem. Funct.* 2007; 25 (4): 433–41.
9. Делекторская В.В., Перевоицков А.Г., Головков Д.А., Кулишинский Н.Е. Прогностическая значимость экспрессии матриксных металлопротеиназ в аденокарциномах толстой кишки и их метастазах. *Биолетень экспериментальной биологии и медицины.* 2007; 143 (4): 434–8.
10. Nelson A.R., Fingleton B., Rothenberg M.L., Matrisian L.M. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18 (5): 1135–49.
11. Skelly M.M., Troy A., Duffy M.J., Mulcahy H.E., Duggan C., Connell T.G., O'Donoghue D.P., Sheahan K. Urokinase-type plasminogen activator in colorectal cancer: relationship with clinicopathological features and patient outcome. *Clin. Cancer Res.* 1997; 3 (10): 1837–40.
12. Baker E.A., Bergin F.G., Leaper D.J. Plasminogen activator system, vascular endothelial growth factor, and colorectal cancer progression. *Mol. Pathol.* 2000; 53 (6): 307–12.
13. Langenskiold M., Holmdahl L., Angenete E., Falk P., Nordgren S., Ivarsson M.L. Differential prognostic impact of uPA and PAI-1 in colon and rectal cancer. *Tumour Biol.* 2009; 30 (4): 210–20.
14. Zlobec I., Minoo P., Baumhoer D., Baker K., Terracciano L., Jass J.R., Lugli A. Multimarker phenotype predicts adverse survival in patients with lymph node-negative colorectal cancer. *Cancer.* 2008; 112 (3): 495–502.
15. Jacobsen B., Ploug M. The urokinase receptor and its structural homologue C4.4A in human cancer: expression, prognosis and pharmacological inhibition. *Curr. Med. Chem.* 2008; 15 (25): 2559–73.
16. Yang J.L., Seetoo D., Wang Y., Ranson M., Berney C.R., Ham J.M., Russell P.J., Crowe P.J. Urokinase-type plasminogen activator and its receptor in colorectal cancer: independent prognostic factors of metastasis and cancer-specific survival and potential therapeutic targets. *Int. J. Cancer.* 2000; 89 (5): 431–9.
17. Fernebro E., Madsen R.R., Ferno M., Brunner N., Bendahl P., Christensen I.J., Johnson A., Nilbert M. Prognostic importance of the soluble plasminogen activator receptor, suPAR, in plasma from rectal cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 2001; 37 (4): 486–91.
18. Fujii T., Obara T., Tanno S., Ura H., Kohgo Y. Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 as a prognostic factor in human colorectal carcinomas. *Hepatogastroenterology.* 1999; 46 (28): 2299–2308.
19. Herszenyi L., Farinati F., Cardin R., Istvan G., Molnar L.D., Hritz I., De Paoli M., Plebani M., Tulassay Z. Tumor marker utility and prognostic relevance of cathepsin B, cathepsin L, urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type-1, CEA and CA 19-9 in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2008; 8: 194.
20. Berger D.H. Plasmin/plasminogen system in colorectal cancer. *World J. Surg.* 2002; 26 (7): 767–71.
21. Papadopoulou S., Scorilas A., Yotis J., Arnogianaki N., Plataniotis G., Agnanti N., Taliari M. Significance of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in human colorectal carcinomas. *Tumour Biol.* 2002; 23 (3): 170–8.
22. Герпштейн Е.С., Пророков В.В., Голубченко О.В., Кулишинский Н.Е. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 при раке толстой кишки: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами. *Вестник Российского онко-*

- логического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН. 2002; 2: 31–6.
23. Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Матриксные металлопротеиназы 2, 3, 13 и их тканевой ингибитор 2-го типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008; 145 (3): 337–41.
 24. Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Щербаков А.М., Пророков В.В., Головков Д.А., Кушлинский Н.Е. Матриксные металлопротеиназы 7 и 9 и их тканевые ингибиторы 1-го и 4-го типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007; 143 (3): 438–41.
 25. Короткова Е.А., Герштейн Е.С., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа (ТИМП-1) при раке толстой кишки: взаимосвязь с клинико-морфологическими факторами. Вопросы онкологии. 2009; 55 (2): 171–6.
 26. Короткова Е.А., Герштейн Е.С., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных раком толстой кишки. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012; 10: 41–6.
 27. Verspaget H.W., Sier C.F., Ganesh S., Griffioen G., Lamers C.B. Prognostic value of plasminogen activators and their inhibitors in colorectal cancer. Eur. J. Cancer. 1995; 31A (7-8): 1105–9.

Поступила 01.07.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.3-006-092:611.43]-091.8

В.В. Делекторская, Н.А. Козлов, Г.Ю. Чемерис

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ГАСТРОЭНТЕРОПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва

Нейроэндокринные новообразования пищеварительной системы (НЭН ПС) являются необычными и редкими эпителиальными опухолями, для которых диагностика степени злокачественности и оценка прогноза на основе анализа только гистологической структуры представляет значительные сложности для морфолога. В настоящем исследовании проведены ретроспективный анализ особенностей пролиферативной активности клеток (ядерного антигена Ki-67) первичных и метастатических НЭН ПС у 137 больных, а также оценка экспрессии кератина-19 (CK19) и рецепторов прогестерона (PR) в НЭН поджелудочной железы (ПЖ) у 57 пациентов. Показано, что индекс Ki-67 в 19 (27,1%) метастатических НЭН ПС возрастал в 1,5–4,5 раза по сравнению с первичной опухолью, что привело к росту степени злокачественности в 6 (21,4%) случаях НЭО G1 и 4 (7%) случаях НЭО G2. Панкреатические НЭО G2 с индексом Ki-67 >5% чаще имели отдаленные метастазы ($p=0,007$) и сниженную выживаемость ($p=0,03$). Ухудшение выживаемости также было отмечено для больных с желудочно-кишечными НЭО G2 с индексом Ki-67 > 15% ($p=0,005$). На основании анализа иммуноморфологических особенностей и пролиферативной активности была выделена редкая группа опухолей – НЭО G3, с менее благоприятным прогнозом по сравнению с НЭО G2. Экспрессия CK19 в НЭО ПЖ была связана с повышенной пролиферативной активностью клеток опухоли ($p=0,04$) и неблагоприятным исходом заболевания ($p=0,003$). В свою очередь экспрессия PR коррелировала с низким индексом Ki-67 ($p=0,006$), отсутствием метастазов ($p=0,004$) и благоприятным исходом ($p=0,000$). Таким образом, изученные маркеры являются важными параметрами морфологической диагностики НЭН ПС, позволяющими более точно оценить степень злокачественности, прогноз и особенности лечения заболевания.

Ключевые слова: нейроэндокринная опухоль; желудочно-кишечный тракт; поджелудочная железа; пролиферативная активность; степень злокачественности; прогноз

Нейроэндокринные новообразования (НЭН) пищеварительной системы (ПС) являются гетерогенной группой эпителиальных опухолей с переменными биологическими характеристиками и клиническим течением. В последние годы значительно увеличилась частота выявления данных новообразований и на сегодняшний день по распространенности среди опухолей пищеварительной системы они занимают второе место, уступая лишь колоректальному раку [1].

В ходе многочисленных исследований было показано, что НЭН ПС отличаются высокой гетерогенностью клеточного состава и метастатического потенциала. Важным прогностическим параметром, обязательным для современной морфологической диагностики НЭН ПС, является оценка дифференцировки и степени злокачественности, позволяющая различить относительно медленно протекающие высокодифференцированные

нейроэндокринные опухоли (НЭО) и агрессивный низкодифференцированный нейроэндокринный рак (НЭР). Согласно классификации ВОЗ 2010 г., на основании определения митотического и пролиферативного (Ki-67) индексов различают три степени злокачественности НЭН (grade 1, 2, 3), что является ключевым моментом для оценки биологического поведения опухоли и выбора варианта адъювантной химиотерапии [2].

В связи с тем что более 60% больных НЭО имеют метастазы на момент постановки диагноза, большое значение для оптимизации лечения имеет определение индекса Ki-67 не только в первичной опухоли, но и во вторичных очагах роста [3].

С другой стороны, около трети пациентов с высокодифференцированными НЭО на момент постановки диагноза имеют локализованное заболевание, что поднимает вопрос о необходимости прогностической стратификации этой группы больных в зависимости от степени риска развития метастазов. Однако в связи с недостаточным количеством данных ни один из прогностических маркеров до сих пор не вошел в рутинную панель иммуногистохимического (ИГХ) исследования НЭО.

Цель настоящего исследования – оценка клинической значимости особенностей экспрессии маркеров в

Для корреспонденции:

Делекторская Вера Владимировна, д-р мед. наук, зав. лаб. иммунохимии и электронной микроскопии
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
E-mail: delektorskaya@yandex.ru