ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

КОНЦЕНТРАЦИИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДО И ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО УДАЛЕНИЯ ОПУХОЛИ

О.М. Кузнецова, Т.Т. Березов,

А.Ю. Чибисова

Кафедра биохимии

Медицинский факультет

Российский университет дружбы народов

ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Проведено иммуноферментное определение и сравнительный анализ содержания матричных металлопротеиназ-2, -7 и -9 в сыворотке крови пациенток больных раком молочной железы (РМЖ) до и спустя две недели после хирургического удаления опухоли.

Ключевые слова: металлопротеиназы, иммуноферментный анализ, рак молочной железы.

Матричные металлопротеиназы (ММП) представляют собой семейство ферментов, способных к гидролизу практически всех основных компонентов внеклеточного матрикса, модулируя тем самым структуру ткани и в норме, и при патологии. Для многих ММП показано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза. Современная концепция роли ММП и их ингибиторов в опухолевой инвазии позволяет рассматривать определение концентраций этих ферментов как серьезную базу для прогнозов и целевого терапевтического вмешательства при различных онкологических заболеваниях [1—6].

В нашем исследовании проведено определение концентраций ММП-2, -7 и -9 в сыворотке крови пациенток больных РМЖ до и спустя две недели после хирургического удаления опухоли, а также анализ взаимосвязи полученных результатов с основными клинико-морфологическими параметрами заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены больные РМЖ в различных стадиях опухолевого процесса: 22,2% пациенток — с I стадией заболевания, 53,3% — со II стадией и 24,4% — с III стадией. Средний возраст пациенток составил 54 года. У всех больных отдаленные метастазы в момент начала лечения отсутствовали.

Для количественного определения были использованы стандартные наборы для прямого иммуноферментного анализа Quantikine[®], R&D Systems, США.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакетов статистических программ SPSS 9,0 и «Statistica 6,0» (StatSoft Inc).

Результаты и обсуждение. С помощью иммуноферментного анализа определили исходное содержание металлопротеиназ в сыворотке крови больных РМЖ, а также через 2 недели после проведенного хирургического лечения.

Различия между исходным содержанием в сыворотке крови ММП-2 и ММП-7 и их концентрациями после хирургического удаления РМЖ были в пределах статистической погрешности. Содержание ММП-9 в сыворотке крови больных РМЖ после лечения было достоверно выше по сравнению с исходным (табл. 1).

Таблица 1

Концентрации ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в сыворотке крови больных РМЖ до и после хирургического лечения

Показатели ММП до и после лечения	N	M ± m (нг/мл)	Пределы колебания	P (до — после лечения)
ММП-2 до	45	244 ± 9,0	151—389	> 0,05
ММП-2 после	45	253 ± 8,0	153—361	
ММП-7 до	25	4,5 ± 0,3	1,9—9,4	> 0,05
ММП-7 после	25	4,4 ± 0,3	2,8—11,0	
ММП-9 до	40	234 ± 14,3	87—446	< 0,0003
ММП-9 после	40	327 ± 21,7	136—847	

Частота повышения концентрации ММП-2 составила 48,9%, при этом абсолютная величина повышения составила в среднем $58,7 \pm 9,3$ нг/мл, величина абсолютного снижения равнялась в среднем $44,5 \pm 9,3$ нг/мл. Таким образом, примерно у половины больных РМЖ установлено снижение содержания ММП-2 в сыворотке крови через 2 недели после хирургического удаления опухоли в среднем на 15,3% от исходной концентрации фермента.

Установлено, что у больных РМЖ со снижением показателя ММП-2 после хирургического лечения величина этого снижения была пропорциональна исходному значению ММП-2, т.е. более заметное снижение чаще выявляли у больных с исходно высоким содержанием ММП-2 ($r = 0,44$; $p = 0,037$).

У 12 из 25 больных РМЖ выявлено повышение содержания ММП-7 в сыворотке крови после проведенного лечения, средняя величина повышения составила $19,2 \pm 7,5\%$. Средняя величина снижения ММП-7 у 13 из 25 больных составила $14,8 \pm 2,9\%$.

Из 40 у 34 (85%) больных РМЖ выявлено повышение содержания ММП-9 в сыворотке крови после лечения. Средняя величина повышения концентрации фермента составила $68,6 \pm 11,3\%$, а средняя величина его снижения у 6 больных — $28,5 \pm 7,6\%$. При этом большее снижение соответствовало большему исходному содержанию ММП-9 в сыворотке крови ($r = 0,77$; $p = 0,07$), тогда как величина повышения ММП-9 не была связана с его исходной концентрацией.

Установлена прямая корреляционная зависимость между исходными показателями ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови больных РМЖ только при I стадии ($r = 0,83$; $p = 0,01$). При дальнейшем прогрессировании заболевания этой зависимости не выявлено.

Значения ММП-2, ММП-7 и ММП-9, определенные после лечения в сыворотке крови больных РМЖ, не были связаны какой-либо корреляционной зависимостью.

Связи исходного содержания ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в сыворотке крови больных раком молочной железы с возрастом и репродуктивным статусом пациенток не установлено.

У больных РМЖ в III стадии достоверно установлено высокое исходное содержание ММП-2 в сыворотке крови (табл. 2), после хирургического лечения снижение ММП-2 было наименьшим. Таким образом, содержание ММП-2 в сыворотке крови больных РМЖ отражало стадию заболевания и свидетельствует о том, что высокие концентрации ММП-2 в сыворотке крови — клинически неблагоприятны.

Таблица 2

Концентрации ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в сыворотке крови больных РМЖ с учетом стадии заболевания

Стадия РМЖ	I	II	III
ММП-2 (нг/мл) $M \pm m (N)$	229 $\square$ 18,8* (10)	235 $\square$ 12,3* (7)	280 $\square$ 14,8** (8)
ММП-7 (нг/мл)	3,8 $\square$ 0,1 (24)	4,7 $\square$ 0,6 (4)	4,6 $\square$ 0,2 (21)
ММП-9 (нг/мл)	217 $\square$ 24,3 (11)	254 $\square$ 22,7 (14)	210 $\square$ 21,9 (11)

Примечание: *vs** $p < 0,05$.

Исходное содержание маркера ММП-7 в сыворотке крови больных РМЖ не было связано со стадией заболевания. Частота снижения содержания ММП-7 повышалась с увеличением стадии заболевания с 40% при I стадии до 46,2% при II стадии и до 71,4% при III стадии ($p = 0,4$). Величина относительного снижения содержания ММП-7 после лечения также недостоверно повышалась при увеличении стадии заболевания (соответственно 5,4 $\square$ 3,0%; 14,6 $\square$ 5,2%; 18,9 $\square$ 3,3%). Таким образом, у больных РМЖ в III стадии после лечения снижение содержания ММП-7 выявляли чаще и оно было интенсивнее, чем у больных РМЖ с I и II стадиями.

Обнаружено, что у больных с I стадией РМЖ в сыворотке крови исходное содержание ММП-2 прямо пропорционально содержанию ММП-9 ($r = 0,83$; $p = 0,011$). Однако при стадии II и III эта зависимость нарушалась.

У больных во II стадии наиболее выражена корреляционная зависимость между исходным содержанием ММП-2 и ММП-7 ($r = 0,93$; $p = 0,0001$), однако у больных РМЖ в I и III стадии эта зависимость отсутствовала.

Таким образом, исходное содержание ММП в сыворотке крови больных РМЖ отражает распространенность опухолевого процесса и может быть полезным маркером при уточнении прогноза течения болезни.

Исходное содержание всех исследуемых протеаз не было связано с критериями T и N. Наибольшая частота относительного снижения содержания ММП-2 и ММП-7 отмечена у больных с множественными регионарными метастазами (75% и 80% соответственно), у больных с единичными метастазами — 35,7% и 40%, у больных без метастазов — 52,2% и 46,7%. Наибольшее увеличение исходного содержания ММП-2 в сыворотке крови установлено у больных РМЖ при значительном распространении опухолевого процесса (T₄ и N₂₋₃).

Достоверно меньшее исходное содержание ММП-9 выявлено в сыворотке крови больных с низко дифференцированным РМЖ ($167 \pm 31,2$ нг/мл) по сравнению с умеренно дифференцированным ($250 \pm 27,4$ нг/мл) ($p < 0,05$). Связи между исходным содержанием ММП-2, ММП-7 в сыворотке крови больных РМЖ, а также с частотой и величиной относительного снижения этих маркеров со степенью злокачественности опухоли не выявлено.

Достоверной связи между исходным содержанием исследуемых ферментов в сыворотке крови больных РМЖ и наличием у пациенток опухолевых эмболов в кровеносных сосудах опухоли не выявлено ($p > 0,05$). После хирургического лечения в неблагоприятной группе больных РМЖ с опухолевыми эмболами после лечения чаще наблюдали снижение содержания ММП-2 и, особенно, ММП-7. Также следует отметить относительное увеличение ММП-9 в сыворотке крови больных РМЖ, которое было интенсивнее у больных РМЖ с опухолевыми эмболами.

После хирургического удаления первичной опухоли молочной железы отмечено достоверное повышение содержания только сывороточной ММП-9 по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,0003$). Наиболее низкое исходное содержание ММП-9 в сыворотке крови выявлено у больных с низко дифференцированными опухолями РМЖ ($p = 0,04$), высокие исходные концентрации ММП-2 были выявлены при III стадии, что может являться клинически неблагоприятным признаком. По результатам проведенных исследований содержание металлопротеиназ в сыворотке крови больных раком молочной железы, определенное до хирургического лечения, отражает распространенность опухолевого процесса. На наш взгляд, в перспективе необходимо провести анализ концентраций ММП в сыворотке крови и в тканях одновременно, кроме того — исследовать содержание эндогенных ингибиторов у тех же пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Brun J.L., Cortez A., Lesieur B. et al. Expression of MMP-2, -7, -9, MT1-MMP and TIMP-1 and -2 has no prognostic relevance in patients with advanced epithelial ovarian cancer // *Oncology Reports*. — 2012. — 27(4). — P. 1049—57.
- [2] Yeo N.K., Eom D.W., Oh M.Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 in nonrecurrent vs recurrent nasal polyps // *Ann Allergy Asthma Immunol*. — 2013. — 111(3). — P. 205—210.
- [3] Li S., Wu Y., Keating S.M., Du H., Sammet C.L., Zadikoff C., Mahadevia R., Epstein L.G., Ragin A.B. Matrix metalloproteinase levels in early HIV infection and relation to in vivo brain status // *J Neurovirology*. — 2013. Epub ahead of print.
- [4] Zhao M., Hu H.G., Huang J., Zou Q., Wang J., Liu M.Q., Zhao Y., Li G.Z., Xue S., Wu Z.S. Expression and correlation of Twist and gelatinases in breast cancer // *Exp Ther Med*. — 2013. — 6(1). — P. 97—100.
- [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). — P. 103—120.

- [6] *Delassus G.S., Cho H., Hoang S. et al.* Many new down — and up-regulatory signaling pathways, from known cancer progression suppressors to matrix metalloproteinases, differ widely in cells of various cancers // *Cell Physiol.* — 2010. — 224(2). — P. 549—558.

**METALLOPROTEINASES CONCENTRATION
IN THE BLOOD SERUM BEFORE AND AFTER
SURGICAL REMOVAL OF THE TUMOR**

**O.M. Kuznetsova, T.T. Berezov,
A.Yu. Chibisova**

Department of Biochemistry
Peoples Friendship University of Russia
Mikluho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

The concentrations of matrix metalloproteinases-2, -7 and -9 in the blood serum of patients with breast cancer were measured both before and two weeks after the surgical removal of the tumor. The comparative analysis of the data was carried out.

Key words: metalloproteinase, immunoenzyme assay, breast cancer.