

ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАТРИКС-МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ В МОЧЕ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

УДК 616-079.1 + 616.62-006

© В. Н. Ткачук, А. С. Аль-Шукри, Д. И. Данильченко

Кафедра урологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И. П. Павлова

Целью работы явилось изучение влияния глубины и степени дифференцировки опухолевого процесса на уровень матрикс-металлопротеаз 2 и 9 в моче у больных раком мочевого пузыря. Пациенты и методы. Обследовали 71 больного раком мочевого пузыря. Группу сравнения составили 14 больных хроническим циститом, а контрольную группу — 45 больных, не имеющих болезней мочевого пузыря, обструкции и инфекции мочевыводящих путей. Уровень металлопротеаз определяли методом цимзографии. Результаты. Доказано, что ферменты протеолиза мочи ММП-2 и ММП-9 являются высокочувствительными показателями наличия рака мочевого пузыря, а их концентрация зависит от глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли и указывает на прогноз течения болезни. Заключение. Для диагностики и неинвазивного определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря целесообразно методом цимзографии определять ММП-2 и ММП-9 в моче.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря; матрикс-металлопротеаза.

ВВЕДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря (РМП) составляет 70% от всех опухолей мочевой системы [2]. Это заболевание наносит обществу значительный социально-экономический ущерб [1, 3], поэтому своевременное распознавание и правильно выбранное лечение РМП с учетом определения прогноза заболевания являются актуальной проблемой современной медицины.

Для разработки новых высокоэффективных методов определения прогноза РМП необходимо более детальное и глубокое изучение биологических особенностей этого вида опухоли. Одним из новых методов оценки агрессивности опухолей в настоящее время является определение эндогенных ферментов протеолиза. В последние годы доказано, что в процессе инвазии злокачественных новообразований происходит протеолитическое разрушение базальной мембраны слизистой оболочки мочевого пузыря опухолевыми клетками [7]. К эндогенным ферментам, участвующим в этом процессе, относят матрикс-металлопротеазы (ММП), повышение концентрации которых связано с инвазией и метастазированием опухоли [4, 5, 6]. Однако опубликованные данные о прогностическом значении ММП у больных РМП являются противоречивыми.

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния активности опухолевого процесса (глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли) на уровень матрикс-металлопротеаз 2 и 9 в моче у больных раком мочевого пузыря.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Мы обследовали 71 больного раком мочевого пузыря, среди которых было 36 женщин и 35 мужчин в возрасте от 38 до 83 лет. Средний возраст пациентов составил $63,2 \pm 5,5$ лет. Больные предъявляли жалобы на учащенное (68 чел.) и болезненное (61 чел.) мочеиспускание и тупые боли над лобком (40 чел.) У 28 (39,4%) пациентов был диагностирован рак мочевого пузыря в стадии Т_a (папиллярная неинвазивная карцинома), у 15 (21,1%) — в стадии Т₁ (опухоль распространялась на субэпителиальную соединительную ткань), у 18 (25,3%) — в стадии Т₂ (опухоль распространялась на мышцы) и у 10 (14,1%) — в стадиях Т₃ и Т₄ (опухоль распространялась на околопузырные ткани и органы).

По степени дифференцировки опухоли, у 11 (15,5%) больных была установлена высокая степень дифференцировки (G-1), у 27 (38,0%) — умеренная степень дифференцировки (G-2), а у 33 (46,5%) — низкая степень дифференцировки (G-3). У всех больных патоморфологический диагноз был определен или после трансуретральной резекции опухоли мочевого пузыря с выполнением биопсии или после цистэктомии.

В группу сравнения были включены 14 больных (6 женщин и 8 мужчин) с другим заболеванием мочевого пузыря — хроническим циститом в стадии обострения. Контрольную группу из 45 человек (4 женщины и 41 мужчина) составили пациенты, у которых не были диагностированы болезни мочевого

пузыря, а они лечились в клинике урологии по поводу варикоцеле, водянки оболочек яичка, фимоза, мочекаменной болезни, но без наличия обструкции или инфекции мочевыводящих путей.

У всех пациентов в моче определяли концентрацию ММП-2 и ММП-9 по стандартной методике, описанной в работах S. Zuckert и соавт. [8]. Для этого утреннюю порцию мочи центрифугировали в течение 10 мин при температуре +4 °С со скоростью 3000 об./мин. Надосадочную жидкость замораживали при температуре –80 °С до момента исследования. Концентрацию ММП-2 и ММП-9 в моче определяли при помощи цимографии, применяя при этом электрофорез в геле в течение 3 часов с 10%-м раствором Sodium-Dodecylsulfat-Poliacrylamid (SDP). Электрофорезом разделяли белки в зависимости от их молекулярного веса. Гель освобождали от SDP, отмывая его в течение 2 часов в буфере, а затем окрашивали его 0,2%-м раствором Coomassie-blau и сканировали на аппарате Scanmaker-4 (США). По оптической плотности геля судили о концентрации матрикс-металлопротеаз. В каждом образце геля для сравнения создавали калибровочную кривую со стандартным набором ММП-2 и ММП-9 с учетом их молекулярного веса (для ММП-2 — 72 кДа, для ММП-9 — 92 кДа).

Полученные относительные показания ММП сопоставляли с концентрацией креатинина в моче для устранения разницы диуреза пациентов [8]. В результате были получены абсолютные значения ММП-2 и ММП-9 мочи, необходимые для дальнейшего сравнения по группам.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistika-6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оказалось, что у больных раком мочевого пузыря концентрация ММП-2 и ММП-9 в моче была значительно выше, чем у больных, страдающих хроническим циститом, и у лиц контрольной группы. Так, у больных раком мочевого пузыря концентрация ММП-2 в моче составила 278,7±29,6 µg/g креатинина, тогда как у пациентов, страдающих хроническим циститом в стадии обострения — 101,5±18,8 µg/g креатинина (p<0,01), а у лиц контрольной группы — 83,5±5,6 µg/g креатинина (p<0,001). Содержание ММП-9 в моче у больных раком мочевого пузыря составило 405,4±32,7 µg/g креатинина, тогда как у пациентов с хроническим циститом — 130,0±50,7 µg/g креатинина (p<0,01), а у лиц контрольной группы — 92,1 ±7,7 µg/g креатинина (p<0,001).

Концентрация ММП-2 и ММП-9 в моче в подгруппе больных с инвазивным раком мочевого пузыря (Т2) была выше (887,4±41,4 µg/g креатинина и 1050,8±34,8 µg/g креатинина соответственно),

чем у пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря (Тa и Т1), у которых она составила 153,2±32,1 µg/g креатинина и 229,8±24,5 µg/g креатинина (p<0,001).

При анализе уровня ММП-2 и ММП-9 в моче у больных РМП в зависимости от степени дифференцировки опухолевых клеток оказалось, что с повышением степени злокачественности опухолевого процесса возрастает уровень исследуемых протеаз. При G-1 концентрация ММП-2 в моче составила 112,4±8,8 µg/g креатинина, при G-2 — 198,6±12,0 µg/g креатинина (p<0,05), а при G-3 — 493,1±18,4 µg/g креатинина (p<0,001).

Концентрация ММП-9 у больных РМП с дифференцировкой клеток G-1 составила 232,8±12,8 µg/g креатинина, при G-2 272,7±31,3 µg/g креатинина (p<0,05), а при G-3 554,3±28,6 µg/g креатинина (p<0,001).

ОБСУЖДЕНИЕ

Для выявления РМП и определения прогноза заболевания оценка пролиферативной активности опухоли путем определения уровня матрикс-металлопротеаз в моче является перспективным методом исследования. Этот метод позволяет урологу заподозрить или исключить РМП уже на этапе предварительного амбулаторного обследования.

Преимущество определения концентрации ММП-2 и ММП-9 в моче методом цимографии по сравнению со стандартной цистоскопией и биопсией стенок мочевого пузыря состоит в том, что это исследование является абсолютно неинвазивным, но достаточно информативным не только для диагностики рака мочевого пузыря, но и для определения глубины прорастания опухоли и дифференцировки клеток опухоли. Повышение концентрации ММП-2 и ММП-9 в моче выше 500 µg/g креатинина является сигналом о наличии у больного инвазивной стадии (Т2 и более) рака мочевого пузыря с низкой степенью дифференцировки (G-3) опухоли.

Это исследование позволяет врачу правильно планировать объем дальнейшего обследования больного, выбрать метод его лечения и более точно прогнозировать течение заболевания. Кроме того, это исследование позволяет своевременно диагностировать рецидив опухоли мочевого пузыря после проведенного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ферменты протеолиза ММП-2 и ММП-9 мочи являются эффективными высокочувствительными показателями наличия рака мочевого пузыря, их

концентрация зависит от глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли и указывает на прогноз течения болезни.

Для диагностики и неинвазивного определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря целесообразно методом цимографии определять концентрацию ММП-2 и ММП-9 в моче, что позволит неинвазивным способом определить стадию рака и проводить контроль после проведенного лечения за возможным рецидивированием опухоли.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аполихин О. И., Какорина Е. П., Сивков А. В. и др. Состояние урологической заболеваемости в Российской Федерации по данным официальной статистики // Урология. 2003. Т. 3. С. 3–9.
2. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2004 году // Вестн. РОНЦ им. Блохина РАМН. 2006. Т. 17 (3). С. 52–89.
3. Лопаткин Н. А., Даренков С. П., Чернышов И. В. и др. Диагностика и лечение рака мочевого пузыря // Урология. 2004. Т. 1. С. 12–17.
4. Forsyth P. A., Wong H., Laing T. D. et al. Gelatinase-A (MMP-2), gelatinase-B (MMP-9) and membrane type matrix metalloproteinase-1 are involved in different aspects of the pathophysiology of different aspects of malignant gliomas // Brit. J. Cancer. 1999. Vol. 79. P. 1828–1835.
5. Kanayama H., Yokota K., Kurokawa Y. Prognostic values of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in bladder cancer // Cancer. 1998. Vol. 82. P. 1359–1366.
6. Sier C. F., Casetta G., Verheijen J. H. et al. Enhanced urinary gelatinase activities (matrix metalloproteinases 2 and 9) are associated with early-stage bladder carcinoma: a comparison with clinically used tumor markers // Clin. Cancer Res. 2000. Vol. 6. P. 2333–2340.

7. Stetler-Stevenson W. G., Hewitt R., Corcoran M. Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic // Semin Cancer Biol. 1996. Vol. 7. P. 1147–1154.
8. Zucker S., Lysik R., Zarrabi H. et al. Plasma assay of gelatinase B: tissue inhibitor of metalloproteinase complexes in cancer // Cancer. 1995. Vol. 76. P. 700–708.

AN IMPORTANCE OF MATRIX-METALLOPROTEASE DETERMINATION IN URINE OF PATIENTS WITH BLADDER CANCER

Tkachuk V. N., Al-Shukri A. S., Danilchenko D. I.

✧ **Summary.** The aim of this work is to estimate an influence of a depth and an extent of differentiation of neoplastic process on 2 and 9 matrix-metalloprotease levels in urine of patients with bladder cancer. *Patients and methods.* 71 patients with bladder cancer have been investigated. 14 patients with chronic cystitis were included in an experimental group and 45 patients without bladder diseases were included in a control group, patients without urinary tract obstructions and infections were included in a control group. A level of metalloprotease was identified by a cimographic method. *Results.* It has been proved that enzymes MMP-2 and MMP-9 of urine proteolysis are high sensitive markers of bladder cancer occurrence and their concentration depends on a depth of invasion and an extent of tumor differentiation, and shows a disease course prognosis. *Conclusion.* It is reasonably to identify MMP-2 and MMP-9 of urine by the cimographic method for diagnostics and noninvasive determination of a depth of invasion and an extent of bladder cancer differentiation.

✧ **Key words:** bladder cancer; matrix-metalloprotease.

Сведения об авторах:

Ткачук Владимир Николаевич — д. м. н., профессор. Кафедра урологии. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Аль-Шукри Адель Сальманович — к. м. н., с. н. с. Кафедра урологии. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Данильченко Дмитрий Иванович — д. м. н., врач-уролог, научный сотрудник госпиталя «Шарите», Германия, Берлин. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Tkachuk Vladimir Nikolaevich — doctor of medical science, professor. Department of Urology. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Al-Shukri Adel Salmanovich — candidate of medical science. Department of Urology. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Danilchenko Dmitriy Ivanovich — doctor of medical science, urologist, hospital “Charite” (Berlin, Germany). E-mail: al-shukri@mail.ru.