

На правах рукописи

ЧЕРНОМАЗ

Иван Сергеевич

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАТРИКСНЫХ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ
У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ**

14.03.10 - клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020 год

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Кушлинский Николай Евгеньевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Булычева Ирина Владиславовна – доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Балдуева Ирина Александровна – доктор медицинских наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научный отдел онкоиммунологии, заведующий

Кондакова Ирина Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», научно-исследовательский институт онкологии, лаборатория биохимии опухолей, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «13» октября 2020 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: <https://www.nrcerm.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время актуальным направлением развития клинической лабораторной диагностики является изучение новых маркеров, позволяющих оценить клиническое течение онкологических заболеваний и их прогноз.

Новообразования костей относятся к одним из наиболее сложных разделов клинической онкологии [Isakoff M.S. et al., 2015; Niu X. et al., 2015]. Несмотря на то, что опухоли костей являются редким заболеванием (1,5-2% от всех опухолей человека), их число неуклонно увеличивается. При этом опухоли скелета относительно часто поражают детей и подростков [Fletcher C.D.M. et al., 2002]. В России заболеваемость первичными злокачественными опухолями костей составляет 1,03 случая на 100 тыс. населения, что соответствует данным по заболеваемости в других странах [Алиев М. Д. с соавт., 2012].

Согласно статистическим данным, среди первичных новообразований костей преобладает остеосаркома (ОС), она составляет 35% от всех опухолей костей, затем идут хондросаркома (ХС), составляющая 25%, и саркома Юинга (СЮ) (16%). Недифференцированная плеоморфная саркома (НПС) и хордома встречаются реже и составляют 5 и 8% соответственно [Алиев М.Д., 2008; Evola F.R. et al., 2017]. Гигантоклеточная опухоль (ГКО) кости составляет приблизительно 5% всех первичных опухолей костей [Снетков А.И. с соавт. 2011; Athanasou N.A. et al., 2013].

Частота возникновения сарком костей имеет два пика: первый пик в возрасте 10-20 лет, второй пик – в возрасте 40-60 лет, крайне редко злокачественные опухоли костей (ЗОК) встречаются у детей в возрасте до 5 лет [Worch J. et al., 2010]. У больных ЗОК в возрасте до 20 лет чаще встречается ОС. Частота ХС возрастает до 75-летнего возраста. Пик СЮ отмечен во втором десятилетии жизни, тем не менее в литературе представлены наблюдения СЮ во всех возрастных группах [van Oosterwijk J.G. et al., 2013].

Остеосаркома - наиболее распространенная первичная ЗОК у детей и подростков [Grohar P.J. et al., 2017; Osborne T.S. et al., 2012; Ritter J. et al., 2010], характеризующаяся прямым образованием незрелой кости или остеонной ткани [Picci P., 2007]. Этиология ОС, как и большинства опухолей костей, неизвестна. Так, например, ОС возникает *de novo* без каких-либо предрасполагающих факторов, может появляться после травмы, инородного тела (ортопедические импланты) [Nielsen G.P. et al., 2013]. Приводят данные о повышенном риске возникновения ОС у детей с массой тела при рождении более 4046 грамм [Mirabello L. et al., 2011]. Считают, что ОС развивается из мезенхимальной стволовой клетки с минимальной остеобластической дифференцировкой, однако «cell of origin» остается неизвестной [Arndt C.A. et al., 2012]. Типичной локализацией ОС является метафиз длинных трубчатых костей [Geller D.S. et al., 2010]. Вовлечение в патологический процесс мелких костей скелета встречается редко [Fletcher C.D.M. et al., 2013]. ОС часто диагностируют на поздней стадии [Ta H.T. et al., 2009]. Предложены несколько

прогностических факторов ОС: возраст, локализация, размер опухоли [Davis A.M. et al., 1994].

Прогноз при ОС неблагоприятный [Ritter J. et al., 2010; Wu D. et al., 2014]. ОС является второй самой высокой причиной смерти от злокачественных опухолей у детей и подростков из-за частого развития метастазов в легких [Ta H.T. et al., 2009]. Данные клинической диагностики показывают, что более чем в 80% случаев у пациентов появлялись легочные метастазы, что является основной особенностью ОС [Bielack S.S. et al., 2002]. При выявлении метастазов 5-летняя выживаемость составляет 20% [Chen L. et al., 2013]. В течение последнего десятилетия в связи с развитием агрессивной химиотерапии [Vacci G. et al., 2005; Smeland S. et al., 2003] и улучшением хирургического лечения 5-летняя выживаемость при ОС увеличилась до 70-80% [Bielack S.S. et al., 2002; Nameed M. et al., 2011]. Исходя из этого, ампутация для пациентов с ОС была заменена на операцию, сохраняющую конечность, однако, как минимум 40% пациентов с ОС погибали из-за рецидивов и метастазов опухоли в легких [Geller D.S. et al., 2010; Harting M.T. et al., 2006; Jaffe N., 2009]. У 10-20% пациентов метастатическое поражение обнаружено при постановке первоначального диагноза [Kager L. et al., 2003] и 30-40% больных ОС с изначально отсутствующими метастазами, у которых в конечном счете появлялись легочные метастазы [Aljubran A.H. et al., 2009]. Показатель 5-летней выживаемости при СЮ с метастазами колеблется от 20 до 45% в зависимости от локализации (легкие и кости/костный мозг) по сравнению с 60-75% пациентов, у которых отсутствовали метастазы [Gaspar N. et al., 2015; Patel P.O. et al., 2019].

ГКО – пограничная опухоль с потенциалом агрессивного поведения и способностью к метастазированию. ГКО имеет относительно высокую частоту рецидивов, легочные метастазы возникают у 1-13% пациентов [Donthineni R. et al., 2009].

Важными симптомами, которые могут навести на мысль о новообразовании кости, являются ограничение подвижности, патологический перелом, а также припухлость, гипертермия кожи, потеря веса и общий дискомфорт, однако все эти симптомы неспецифичны [Jawad, M.U. et al., 2010; Singer, F.R. et al., 2008; Szuhai, K. et al., 2012]. Прогностические факторы очень важны для клиницистов, так как раннее выявление пациентов с высоким риском позволяет выбрать эффективные методы лечения опухолей костей [Poletajew S. et al., 2011; Ta H.T. et al., 2009].

Высокий метастатический потенциал ЗОК, трудности ранней диагностики, быстрое прогрессирование и резистентность к терапии, развитие процесса в молодом возрасте приводят к необходимости разработки новых методов диагностики и поиску новых мишеней для целенаправленного лечения [Алиев М.Д., 2010; Capasso, L. et al., 2019].

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время актуальным направлением является комплексное изучение клеточных сигнальных систем, отвечающих за ключевые

характеристики опухолевого процесса [Hanahan D. et al., 2011; Zhang M. et al., 2015]. Исследования разных авторов подтверждают мнение о том, что внеклеточные матричные металлопротеиназы (ММП), опосредуют многие изменения в микроокружении опухоли во время ее прогрессирования, участвуют в опухолевом неоангиогенезе, способствуя развитию новых кровеносных сосудов и метастазированию [Deryugina E.I. et al., 2006; Deryugina E.I. et al., 2010; Kessenbrock K. et al., 2010; Malesud, C.J. et al., 2006]. Деградация внеклеточного матрикса (ВКМ) – значимый фактор для опухолевой прогрессии и помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [Duffy M.J. et al., 2008].

ММП или матриксинасы – семейство секретируемых или связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз, впервые описанных более полувека назад и способных разрушать практически все компоненты ВКМ [Deryugina E.I. et al., 2006; Malesud, C.J. et al., 2006; Nelson, A.R. et al., 2000; Oh J. et al., 2001]. Субстратами ММП помимо большинства компонентов ВКМ также могут быть другие протеазы, хемотаксические молекулы, латентные формы факторов роста, растворимые и мембранно-ассоциированные белки, связывающие факторы роста, цитокины [Nelson A.R. et al., 2000; Westermarck J. et al., 1999]. Активность ММП подавляется с помощью их тканевых ингибиторов (ТИМП) [Герштейн Е.С. с соавт., 2013; Vovee J.V. et al., 2000; Malcherzyk, D. et al., 2018]. Баланс между экспрессией ММП и ТИМП нарушен при онкологических заболеваниях [Feely M.G. et al., 2002; Sounni, N.E. et al., 2003].

В ретроспективных клинических исследованиях отмечена повышенная экспрессия различных ММП в первичной опухоли и метастазах, ассоциированная со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с низкими показателями выживаемости пациентов с различными злокачественными новообразованиями [Deryugina E.I. et al., 2006; Westermarck J. et al., 1999]. В частности, в экспериментальных исследованиях показано, что клетки ОС экспрессируют ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 [Djafarzadeh R. et al., 2004] и, как полагают, последние могут принимать активное участие в процессах инвазивного роста новообразований [Hornebeck W. et al., 2005; Kang H.G. et al., 2007]. В настоящее время различные представители семейства ММП рассматриваются как возможные маркеры прогноза злокачественных новообразований [Делекторская В.В. с соавт., 2007; Domodharan U. et al., 2011; Higashiguchi T. et al., 2007; Hong S.W. et al., 2011; Huang J.F. et al., 2016; Hurst N.G. et al., 2007; Islekel H. et al., 2007].

В настоящее время в литературе представлено не так много работ по изучению уровней ММП и ТИМП в крови пациентов с новообразованиями костей. Исследование сывороточных ММП-2, ММП-7, ММП-9 и ТИМП-1, ТИМП-2 у пациентов с опухолями костей в перспективе сможет стать дополнительным критерием для оценки клинического течения заболевания и прогноза.

Цель исследования

Оценить клиническую значимость иммуноферментного определения содержания сывороточных маркеров семейства матричных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ у больных новообразованиями костей различных гистологических типов и изучить их взаимосвязь с основными клинико-морфологическими характеристиками опухолей и прогнозом выживаемости.

Задачи исследования

1. Провести сравнительное определение содержания матричных металлопротеиназ (ММП-2, ММП-7, ММП-9) и их тканевых ингибиторов (ТИМП-1 и ТИМП-2) в сыворотке крови больных злокачественными и пограничными опухолями костей, не получавших специфического лечения, и у практически здоровых людей (контрольная группа).

2. Проанализировать взаимосвязь уровней ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови пациентов до начала лечения с основными клинико-морфологическими особенностями новообразований костей (гистологическое строение, степень дифференцировки, стадия заболевания, тип пораженной кости), а также полом и возрастом больных.

3. Провести анализ уровней ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови с учетом безрецидивной и общей выживаемости больных первичными злокачественными опухолями костей.

4. Обосновать комплекс лабораторных показателей системы ММП и ТИМП для оценки прогноза у больных злокачественными опухолями костей.

Научная новизна исследования

Впервые на большом клиническом материале проведено одновременное сравнительное иммуноферментное исследование содержания нескольких представителей семейства ММП (ММП-2, ММП-7, ММП-9) и ТИМП (ТИМП-1, ТИМП-2) в сыворотке крови больных опухолями костей с учетом их связи с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания, прогнозом безрецидивной и общей выживаемости.

Выявлены пониженные относительно практически здоровых людей (контрольной группы) уровни содержания ММП-2 и ММП-9 и повышенные уровни ММП-7 у больных пограничными и злокачественными опухолями костей.

Впервые выявлена связь показателей общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей с исходными уровнями содержания ММП-2 и ММП-7.

Выявлены высокие концентрации сывороточных ТИМП-1 и ТИМП-2 у больных злокачественными и пограничными опухолями костей по сравнению с контролем.

Впервые доказано, что содержание белков ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови следует считать статистически значимыми и независимыми факторами прогноза у больных злокачественными опухолями костей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные нами данные расширяют представление о роли сывороточных биохимических маркеров (ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2) в диагностике и прогнозе общей и безрецидивной выживаемости больных новообразованиями костей различных гистологических типов.

Показана возможность использования значений изучаемых биохимических показателей в сыворотке крови в качестве потенциальных клиничко-лабораторных маркеров оценки характера новообразований костей.

Представлена возможность оценить прогноз у больных саркомами костей с использованием комплекса изучаемых биохимических лабораторных маркеров, которые отражают не только агрессивный биологический потенциал опухоли, но и связаны с отдаленными результатами лечения этой категории пациентов.

Анализ данных по исследованию сывороточных лабораторных маркеров у больных злокачественными опухолями костей позволил выделить группу пациентов высокого риска, которые нуждаются в адъювантной терапии после операции, а в последующем в более пристальном наблюдении.

Также выявлено, что содержание белков ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови, как и стадию заболевания, следует считать значимыми и независимыми факторами прогноза у больных злокачественными опухолями костей.

Полученные лабораторные данные имеют практическое значение, позволяют оптимизировать диагностический и лечебный алгоритмы при опухолях костей с учетом биологических характеристик заболевания, наметить перспективные направления клиничко-лабораторных исследований.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы (ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2) являются информативными диагностическими лабораторными маркерами, позволяющими уточнить характер опухолей костей.

2. Уровни матриксных металлопротеиназ 2 и 7 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей могут использоваться как дополнительные диагностические лабораторные маркеры оценки прогноза общей выживаемости.

3. Уровни содержания тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ 1 и 2 типов в сыворотке являются значимыми и независимыми факторами прогноза у больных злокачественными опухолями костей.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы является комплексное исследование содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных с новообразованиями костей с использованием иммуноферментных тестов, выполненных с использованием современного оборудования и методик. В исследовании учитывали клиничко-морфологические особенности опухолей костей на основании

общеклинических, рентгенологических и гистологических данных. В диссертационном исследовании проводили статистический анализ показателей безрецидивной и общей выживаемости с учетом изучаемых лабораторных маркеров.

Степень достоверности результатов

Степень достоверности диссертационного исследования основана на полном соответствии с запланированным дизайном, достаточном количестве обследованных пациентов (128 больных опухолями костей), использовании современных лабораторных методик, которые полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Работа выполнена в соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами. Полученные в ходе исследования данные обработаны с использованием современных методов статистического анализа. Интерпретация и обсуждение полученных результатов выполнены на основании изучения достаточного количества отечественных и зарубежных работ (213 литературных источников). Выводы и практические рекомендации логичны, подкреплены убедительными фактическими данными, вытекают из результатов проведенных исследований и полностью соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на: 21th International Charles Heidelberger Symposium (Moscow, May 25-27, 2016); Втором Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 12-14 октября 2016 г.); II Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 6-8 декабря 2016 г.); XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, Крокус-Экспо, 21-23 марта 2017 г.); III Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 11-13 октября 2017 г.); IV Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 3-5 октября 2018 г.).

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты исследования внедрены в клиническую практику лаборатории клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Материалы диссертации используются на лекционных, семинарских занятиях с курсантами циклов повышения квалификации врачей на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ.

Личный вклад автора

Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автор лично принимал участие в заборе материала, проводил биохимические исследования у больных первичными опухолями костей и здоровых доноров. Диссертантом осуществлены статистическая обработка, анализ и интерпретация собранных материалов, сформулированы выводы и практические рекомендации, оформлена диссертационная работа.

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 14 печатных работ, 3 из них в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 14.03.10.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», глав «Результатов собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов и указателя цитируемой литературы. Общий объем диссертации 153 листа машинописного текста, иллюстрирована 75 таблицами и 15 рисунками. Указатель литературы содержит 213 источников, из них 24 работы отечественных и 189 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика больных опухолями костей

В исследование включены 108 больных злокачественными и 20 больных пограничными опухолями костей в возрасте от 5 до 76 лет, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и ГKB № 62.

Группу контроля составили 90 здоровых доноров в возрасте от 18 до 77 лет, обследованных в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

У всех больных новообразованиями костей опухоль выявлена впервые и клинический диагноз подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно «Международной гистологической классификации опухолей человека» (ВОЗ, 2014). Среди обследованных больных ЗОК выявлены в 108 наблюдениях и среди них: остеосаркома (ОС) – 58 (45,3%), хондросаркома (ХС) – 29 (22,7%), саркома Юинга (СЮ) – 15 (11,7%), хордома – 3 (2,3%), недифференцированная плеоморфная саркома (НПС) кости – 3 (2,3%); пограничная ГКО кости выявлена у 20 больных.

Среди обследованных пациентов: 69 (53,9%) мужчин и 59 (46,1%) – женщин. Группу контроля составили 29 (32,2%) мужчин и 61 (67,8%) женщина.

У всех больных проведено лечение. У 27 (21,1%) пациентов с опухолью кости выполнено только хирургическое удаление опухоли. Полихимиотерапию проводили у 11 (8,6%) больных, монохимиотерапию – у 2-х (1,6%). Полихимиотерапия с последующим хирургическим удалением опухоли выполнена 11 (8,6%) больным, полихимиотерапия с лучевой терапией выполнена 4 (3,2%), комбинированное лечение – 73 (57,0%) пациентам.

Специальные лабораторные методы исследования

Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа «Total MMP-2 Immunoassay», «Human Total MMP-7 Immunoassay», «Human MMP-9

Immunoassay», «Human TIMP-1 Immunoassay», «Human TIMP-2 Immunoassay» (Quantikine®, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистические методы анализа

Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и сравнения его с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова. Для признаков с распределением, значимо отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, квантили и применяли непараметрические методы сравнения несвязанных признаков (Kruskal-Wallis Anova & Median test при количестве сравниваемых групп более двух и Mann-Whitney при сопоставлении двух групп). При сравнении частот строили таблицы сопряженности признаков. Для расчета p использовали точный критерий Фишера (при небольших объемах групп) и непараметрический критерий χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Проводили корреляционный анализ рангов Спирмена с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости. Также использовали регрессионную многофакторную модель Кокса.

Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов «STATISTICA» и SPSS в отделе информационных технологий ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание ММП-7 в сыворотке больных опухолями костей и в контроле

В контрольной группе медиана ММП-7 составила 2,1 нг/мл и была достоверно ниже, чем при ЗОК (3,4 нг/мл) и ГКО (3,9 нг/мл) (таблица 1), при этом концентрации маркера не отражали характер опухолевого процесса.

За пороговое значение нами принято содержание ММП-7, равное верхнему квантилю показателя маркера в группе контроля (2,7 нг/мл). Частота повышенных относительно контроля уровней ММП-7 равнялась 80% (16 из 20) - у больных ГКО и 75% (81 из 108) - у больных ЗОК.

Таблица 1.

Содержание ММП-7 в крови больных опухолями костей и лиц контрольной группы

| Группы | N | ММП-7, нг/мл | | | | P Kruskal-Wallis test |
|-----------------------|-----|--------------|---------|----------|---------|--|
| | | Пределы | Медиана | Квантили | 95%ДИ | |
| Контроль ⁰ | 28 | 1,1-6,4 | 2,1 | 1,7-2,7 | 1,4-4,5 | $p_{0vs1,2} < 0,0001$; $p_{1vs2} > 0,05$ |
| ГКО ¹ | 20 | 2,2-6,0 | 3,9 | 2,9-5,3 | 2,2-6,0 | |
| ЗОК ² | 108 | 1,2-8,2 | 3,4 | 2,7-4,3 | 1,9-5,6 | |

Не установлена зависимость между уровнями ММП-7 в крови и возрастом в контроле ($r_s = 0,32$; $p = 0,1$) и при ГКО ($r_s = 0,27$; $p = 0,3$), но она была статистически значимой у больных ЗОК ($r_s = 0,39$; $p = 0,0001$).

Выявлена достоверная связь уровней ММП-7 в крови больных опухолями костей с их гистологическим строением (таблица 2): наименьшие значения

маркера обнаружены при саркоме Юинга (2,8 нг/мл), а наибольшие – при ГКО (3,9 нг/мл).

Таблица 2.

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных опухолями костей
в зависимости от гистологического строения опухоли

| Гистологическое строение опухолей костей | N | ММП-7, нг/мл | | P |
|---|----|--------------|-------------------|--|
| | | Пределы | Медиана; квартили | |
| Хондросаркома ¹ | 29 | 1,8-7,8 | 3,6; 3,2-5,0 | p _{1vs4} =0,003 p _{2vs4} =0,009 p _{1vs3} =0,046 |
| Саркома Юинга ² | 15 | 1,2-4,5 | 2,8; 2,3-3,4 | |
| Остеосаркома ³ | 58 | 1,7-8,2 | 3,3; 2,6-4,0 | |
| Хордома | 3 | 3,5-5,0 | 3,7; 3,5-5,0 | |
| Недифференцированная плеоморфная саркома | 3 | 2,2-4,3 | 3,0; 2,2-4,3 | |
| Гигантоклеточная опухоль ⁴ | 20 | 2,2-6,0 | 3,9; 2,9-5,3 | |

Примечание: *абсолютное значение.

Показано, что уровни ММП-7 в крови больных ЗОК достоверно связаны с локализацией опухоли в костях скелета. Так, в группе больных ЗОК достоверно меньшая концентрация ММП-7 обнаружена у больных с опухолью в малоберцовой кости (1,9 нг/мл), по сравнению с локализацией опухоли в бедренной (3,6 нг/мл) и плечевой (3,4 нг/мл) костях, в крестце (3,7 нг/мл).

Не установлено значимой связи концентраций ММП-7 от стадии опухолевого процесса, критериев TNM, степени дифференцировки опухоли, а также типа пораженной кости. Анализ показал, что возраст наибольшим образом оказывал влияние на концентрацию сывороточной ММП-7 у больных ЗОК (p=0,02).

Содержание ММП-2 в сыворотке больных опухолями костей и лиц
контрольной группы

В контроле показатели медианы и квартилей маркера ММП-2 были достоверно выше, чем у больных ЗОК и ГКО (таблица 3).

Таблица 3.

Содержание ММП-2 в сыворотке крови больных опухолями костей
и в контроле

| Группы | N | ММП-2, нг/мл | | | | P Kruskal-Wallis test |
|-----------------------|-----|--------------|---------|----------|---------|---|
| | | Пределы | Медиана | Квартили | 95% ДИ | |
| Контроль ⁰ | 76 | 162-1594 | 453 | 348-545 | 242-842 | p _{0vs1} <0,0001; p _{0vs2} <0,0001; p _{1vs2} >0,05 |
| ГКО ¹ | 20 | 117-497 | 243 | 196-321 | 129-452 | |
| ЗОК ² | 108 | 92,3-624 | 253 | 167-336 | 117-439 | |

Нижний 95% ДИ ММП-2 в контроле составил 242 нг/мл, это значение было принято за пороговое. Частота сниженных уровней ММП-2 относительно контроля равнялась 55% (11 из 20) у больных ГКО и 47,2% (51 из 108) в группе больных ЗОК, поэтому данный маркер не может служить критерием, определяющим характер опухолевого процесса. Обнаружена прямая достоверная корреляционная зависимость между уровнями ММП-2 и возрастом

в контроле ($r_s=0,39$; $p=0,0005$), однако с учетом пола эта зависимость была незначимой как у здоровых мужчин ($r_s=0,46$; $p=0,4$), так и у здоровых женщин ($r_s=0,33$; $p=0,08$). При ГКО и ЗОК эти показатели были не значимы ($r_s=0,28$; $p=0,3$) и ($r_s=0,17$; $p=0,09$) соответственно. Анализ значений ММП-2 в крови больных опухолями костей выявил их достоверные различия между больными СЮ (178 нг/мл) и ХС (295 нг/мл). Наибольшие уровни маркера отмечены при хордоме (369 нг/мл). Частота сниженных относительно контроля значений ММП-2 равнялась 0% в группе больных хордомой, 27,6% - при ХС, 51,7% - при ОС, 55% - при ГКО, 66,7% - при НПС кости и была наибольшей у больных СЮ (73,3%) ($p=0,028$).

Проведен анализ данных о содержании ММП-2 в крови больных опухолями костей с учетом возраста и гистологического строения новообразования. Как следует из полученных результатов, у больных в возрасте старше 40 лет в большинстве групп выявлены более высокие значения маркера.

Взаимосвязи между концентрацией ММП-2 в крови и локализацией опухоли в кости не обнаружили. У больных ЗОК обнаружено значимо большее содержание ММП-2 при поражении губчатых костей (376 нг/мл) по сравнению с трубчатыми (232 нг/мл; $p<0,008$). Более высокие уровни ММП-2 в крови больных были характерны при поражении губчатых костей всех анализируемых групп.

Не установлено связи концентраций ММП-2 с клинической стадией заболевания и критериями TNM у больных ЗОК. Рассчитали уровни ММП-2 в сыворотке крови больных ЗОК в зависимости от гистологического строения опухоли и стадии заболевания.

Многофакторный анализ показал, что уровни ММП-2 у больных ЗОК в большей степени зависели от гистологического строения опухоли ($p=0,06$), чем от стадии заболевания ($p=0,7$). Не обнаружили зависимости уровней ММП-2 в сыворотке крови больных ЗОК от степени дифференцировки опухоли.

Содержание ММП-9 в сыворотке больных опухолями костей и лиц контрольной группы

В контроле показатель ММП-9 варьировал от 239 до 1732 нг/мл, медиана и квартили показателя составили соответственно 967 и 756-1195 нг/мл, что было достоверно выше, чем в группе больных ЗОК (637; 396-1053 нг/мл) и незначимо выше, чем в группе ГКО (570; 374-1048 нг/мл).

Не установлено зависимости между уровнями ММП-9 и возрастом в контроле ($r_s=-0,23$; $p=0,1$) и у больных ГКО ($r_s=0,22$; $p=0,4$). Однако эта зависимость была статистически значимой в группе больных ЗОК ($r_s=0,22$; $p=0,02$). Многофакторный анализ подтвердил значимую зависимость уровней маркера ММП-9 от возраста больных ЗОК ($p=0,0018$).

Наименьшие медианы маркера ММП-9 выявлены при СЮ (483 нг/мл), а наибольшие – при ХС (931 нг/мл), при этом уровни маркера не отличались от такового в контроле. У 3-х больных хордомой также выявлены значения белка,

сопоставимые с таковыми у здоровых людей. У больных СЮ установлены наиболее отличные от контроля низкие значения ММП-9 ($p=0,0003$).

Изучили связь сывороточных концентраций ММП-9 у больных ГКО и ЗОК с различной локализацией опухоли в костях скелета. Так, в группе больных ГКО заметно низкие концентрации ММП-9 выявлены при локализации опухоли в бедренной кости (519 нг/мл). У больных ЗОК низкие концентрации фермента отмечены при локализации опухоли в малоберцовой (549 нг/мл), бедренной (580 нг/мл) и плечевой (483 нг/мл) костях. При локализации опухоли в крестце (889 нг/мл), подвздошной кости (978 нг/мл), ключице и лопатке (1426 нг/мл) обнаружены более высокие концентрации белка, сопоставимые с таковыми в контроле. Уровни ММП-9 в крови больных опухолями костей зависели от типа пораженной кости: статистически значимо меньшие концентрации ММП-9 обнаружены у больных ЗОК при поражении трубчатых костей (586 нг/мл), по сравнению с плоскими (987 нг/мл) и губчатыми (1052 нг/мл). Эта закономерность подтвердилась и в группе больных ОС и ХС. Различия при ХС были статистически значимы ($p=0,02$). В группе из 4-х больных СЮ с поражением плоских костей установлены наименьшие концентрации ММП-9 (356 нг/мл). При этом, многофакторный анализ показал, что уровни сывороточной ММП-9 в большей степени зависели от анатомического типа пораженной опухолью кости ($p=0,06$), чем от гистологического типа опухоли ($p=0,2$).

Не обнаружили связи концентраций ММП-9 в крови больных ЗОК с клинической стадией заболевания и критериями системы TNM. Многофакторный анализ показал, что уровни ММП-9 в крови больше зависели от анатомического типа пораженной опухолью кости ($p=0,05$), чем от гистологического строения опухоли ($p=0,077$) и стадии заболевания ($p=0,43$), а возраст ($p=0,028$) и гистологическое строение опухоли ($p=0,17$) в большей степени связаны с уровнями ММП-9 в сыворотке крови больных ЗОК, чем стадия заболевания ($p=0,33$) и степень дифференцировки новообразования ($p=0,45$).

Содержание ТИМП-1 в сыворотке больных опухолями костей и лиц контрольной группы

Медиана и квартили ТИМП-1 в контроле составили 296 и 232-332 нг/мл, что было высокосignificantly ниже, чем у больных ЗОК (343; 290-468 нг/мл), и достоверно ниже, чем у больных ГКО (372; 291-487 нг/мл). В то же время, отличий между уровнями ТИМП-1 у больных ГКО и ЗОК не отмечено.

За пороговое значение нами принято содержание ТИМП-1, равное верхнему 95% ДИ показателя в группе контроля (393 нг/мл). Частота повышенных относительно контроля уровней ТИМП-1 равнялась 45,0% (9 из 20) в группе больных ГКО и 37,0% (40 из 108) в группе больных ЗОК.

Установлена обратная зависимость между уровнями ТИМП-1 и возрастом в контроле ($r_s = -0,32$; $p=0,036$). Эта взаимосвязь отсутствовала при ГКО ($r_s=0$) и ЗОК ($r_s = -0,13$; $p=0,2$). Следует отметить, что в группе детей с ЗОК указанная

зависимость между концентрацией ТИМП-1 и возрастом ребенка была прямой и значимой ($r=0,53$; $p=0,0003$). У 27 больных ЗОК пубертатного возраста концентрации ТИМП-1 были значимо выше, чем у 12 детей в возрасте до 14 лет (442 и 272 нг/мл соответственно; $p=0,0002$). Наибольшие значения маркера обнаружены у больных ГКО и ЗОК в возрасте от 18 до 29 лет (476 и 442 нг/мл соответственно). В группе больных ЗОК не установлено значимых различий в содержании сывороточного ТИМП-1 у взрослых мужчин и женщин.

Установлены статистически значимые различия содержания ТИМП-1 в группах больных опухолями костей различного гистологического строения. Так, наибольшие значения маркера выявлены у больных СЮ (442 нг/мл), ОС (368 нг/мл) и ГКО (372 нг/мл), которые значимо превышали контроль. Концентрация ТИМП-1 была достоверно выше при СЮ по сравнению с ОС (442 против 368 нг/мл, $p=0,013$), а при ОС значимо выше, чем при ХС (368 против 297 нг/мл; $p=0,003$).

У больных ОС достоверно большие значения сывороточного ТИМП-1 выявлены у пациентов в возрасте от 18 до 39 лет (412 нг/мл). В остальных группах больных опухолями костей взаимосвязи между возрастом пациентов и концентрацией сывороточного ТИМП-1 не обнаружили.

Содержание ТИМП-1 в сыворотке крови больных опухолями костей различалось с учетом вида пораженной кости. У больных ГКО значимо большие медианы сывороточного ТИМП-1 выявлены при локализации опухоли в бедренной (390 нг/мл) по сравнению с большеберцовой (301 нг/мл) костью ($p=0,048$). При ЗОК достоверно большая концентрация маркера обнаружена у больных с опухолью в малоберцовой кости (544 нг/мл), чем в бедренной (368 нг/мл), большеберцовой (330 нг/мл), плечевой (320 нг/мл) костях, в крестце (285 нг/мл) и подвздошной кости (292 нг/мл).

Обнаружено статистически достоверно меньшие медианы уровня ТИМП-1 в сыворотке крови больных опухолями костей при поражении губчатых костей (285 нг/мл) по сравнению с поражением трубчатых костей (359 нг/мл; $p=0,04$). При этом важно отметить, что в группе больных СЮ как при поражении трубчатых, так и плоских костей концентрации ТИМП-1 были высокими (466 и 436 нг/мл соответственно). При ХС с поражением как трубчатых, так и плоских костей уровни ТИМП-1 были низкими (305 и 292 нг/мл соответственно).

Исследовали связь концентраций ТИМП-1 в крови в зависимости от клинической стадии заболевания и критериев TNM. Частота выявления концентраций ТИМП-1 выше порогового значения маркера в контроле (393 нг/мл) составила 11,8% (2 из 17) - при I, 44% (33 из 76) - при II, 33,3% (5 из 15) - при IV стадиях ($p=0,043$).

Не отмечено связи уровней сывороточного ТИМП-1 со стадией заболевания ни в одной из исследованных групп больных ЗОК.

Установлено повышение медианы ТИМП-1 при снижении степени дифференцировки опухоли (G1 – 292 нг/мл, G2 – 295 нг/мл, G3-G4 – 345 нг/мл), однако различия статистически незначимы.

Содержание ТИМП-2 в сыворотке больных опухолями костей и лиц контрольной группы

Показатель ТИМП-2, определенный в сыворотке крови группы контроля, варьировал в пределах от 28,3 до 202 нг/мл, медиана и квартили маркера составили соответственно 60,7 и 42,2-106 нг/мл, и были достоверно ниже, чем в группе больных ЗОК (128; 101-145 нг/мл) и ГКО (125; 102-133 нг/мл). Не выявили различий в уровнях ТИМП-2 между больными ГКО и ЗОК.

При построении ROC-кривой найдено пороговое значение ТИМП-2 равное 105 нг/мл, при котором группы больных опухолями костей и контроля наиболее отличались. Так, чувствительность теста в группе больных ЗОК составила 70,8% (46 из 65), в группе больных ГКО – 70% (7 из 10) при специфичности 72,2%. Таким образом, с помощью полученного показателя не представляется возможным провести разделение пациентов на больных опухолями костей и здоровых доноров с необходимой точностью, поэтому ТИМП-2 не может быть использован в качестве онкомаркера.

Зависимость между уровнями ТИМП-2 в сыворотке крови и возрастом отсутствовала во всех выделенных группах.

Следует отметить, что в группе детей с опухолями костей указанная зависимость между концентрацией ТИМП-2 и возрастом ребенка была обратной и значимой ($r=-0,45$; $p=0,042$). У 9 детей, больных ЗОК в пубертатном возрасте, концентрации ТИМП-2 были ниже, чем у 12 детей в возрасте до 14 лет (103; 97-131 нг/мл и 144; 125-152 нг/мл соответственно) ($p=0,05$ тенденция к различию). В группе контроля наименьшие уровни ТИМП-2 выявлены у доноров старше 60 лет. Наибольшие показатели ТИМП-2 обнаружены как у пациентов ГКО, так ЗОК в возрастной группе 18-29 лет (476 и 442 нг/мл соответственно).

В группе больных ЗОК не установлено значимых различий в содержании ТИМП-2 как у взрослых, так и у детей мужского и женского пола.

Исследовали содержание ТИМП-2 в сыворотке крови больных опухолями костей в зависимости от гистологического строения опухоли (таблица 9). Показатели ТИМП-2 во всех выделенных группах больных значимо отличались от показателей контрольной группы, наибольшие значения маркера выявлены у больных СЮ (165 нг/мл).

Не установлено значимых различий в содержании ТИМП-2 у больных с различной локализацией опухолей. Только в группе больных ЗОК отмечены недостоверно высокие уровни ТИМП-2 при опухолевом поражении губчатых костей (140 нг/мл).

В группах больных ЗОК с учетом гистологического строения опухоли также не выявлено связи ТИМП-2 с типом пораженной кости.

Рассчитали концентрации ТИМП-2 в сыворотке крови больных ЗОК в зависимости от гистологического строения опухоли и стадии заболевания. Не отмечено значимой связи между уровнем маркера и стадией заболевания ни в

одной из выделенных групп больных ЗОК. Не установлено связи уровней ТИМП-2 со степенью дифференцировки опухоли.

Взаимозависимости между концентрациями белков ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1, 2, в сыворотке крови больных опухолями костей

Рассчитали корреляционные зависимости между концентрациями изучаемых маркеров в сыворотке крови у больных ГКО и ЗОК (таблица 4).

Таблица 4.

Корреляционные зависимости между концентрациями белков ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1, 2 в сыворотке крови больных опухолями костей

| Показатели | Больные ГКО | | Больные ЗОК | |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|
| | r | P | r | P |
| ММП-2 – ММП-7 | 0,17 | 0,5 | 0,24 | 0,013 |
| ММП-2 – ММП-9 | 0,49 | 0,029 | 0,51 | <0,0001 |
| ММП-7 – ММП-9 | 0,1 | 0,7 | 0,20 | 0,03 |
| ММП-2 – ТИМП-1 | -0,54 | 0,014 | -0,69 | <0,0001 |
| ММП-2 – ТИМП-2 | 0,34 | 0,4 | 0,56 | <0,0001 |
| ММП-7 – ТИМП-1 | -0,24 | 0,32 | -0,21 | 0,025 |
| ММП-7 – ТИМП-2 | 0,24 | 0,5 | 0,13 | 0,3 |
| ММП-9 – ТИМП-1 | -0,37 | 0,11 | -0,31 | 0,0012 |
| ММП-9 – ТИМП-2 | 0,18 | 0,6 | 0,09 | 0,5 |
| ТИМП-1 – ТИМП-2 | 0,25 | 0,5 | -0,04 | 0,7 |

Выявлена значимая прямая корреляционная зависимость в обеих группах больных опухолями костей между уровнями белков ММП-2 и ММП-9. При этом данная зависимость отмечена при всех изученных вариантах строения опухоли. Данная зависимость отсутствовала в группе больных ЗОК с высокой степенью дифференцировки опухоли G1 ($r=-0,22$; $p=0,4$), а также в группе больных Ia-Ib стадиями ($r=-0,12$; $p=0,6$) и была максимальной у больных с G2-G4 ($r=0,56$; $p=0,0001$) и при II-IV стадиях ($r=0,58$; $p=0,0001$). Между уровнями сывороточных белков ММП-2 и ММП-7 выявлена прямая зависимость, наиболее выраженная у больных ЗОК в I стадии ($r=0,69$; $p=0,002$) и значительно ниже при II стадии ($r=0,25$; $p=0,029$). Установлена обратная корреляционная зависимость между уровнями маркеров ММП-2 и ТИМП-1 ($r=-0,69$). Важно отметить, что у больных ЗОК в I стадии данная зависимость отсутствовала ($r=-0,08$; $p=0,8$), была линейной в группе больных со II ($r=-0,75$; $p=0,0001$) и IV ($r=-0,70$; $p=0,004$) стадиями. Зависимость между ММП-2 и ТИМП-1 в крови отсутствовала у больных с G1-G2 ($r=0$), но была значимой ($r=-0,62$; $p=0,0001$) в группе больных с G3-G4 степенью дифференцировки опухоли. Установлена тесная прямая статистически значимая корреляционная зависимость между белками ММП-2 и ТИМП-2 ($r=0,56$; $p<0,0001$). Данная корреляционная зависимость показала другой характер изменения по мере увеличения стадии. В группе больных с I ($r=0,48$; $p=0,07$) и IV ($r=0,32$; $p=0,3$) стадиями зависимость была не достоверной. Значимые различия отмечены только в группе больных с IIb стадией ($r=0,57$; $p=0,0002$). Зависимости между уровнями ММП-7 и ММП-9, ММП-7 и ТИМП-1, ММП-9 и ТИМП-1, ТИМП-1 и ТИМП-2 были слабыми и не

изменялись при увеличении стадии заболевания. Зависимости отсутствовали в группах с различным гистологическим строением опухоли, полом и возрастом.

Полученные данные указывают на сложный характер взаимосвязей изучаемых белков в сыворотке крови больных ЗОК.

Выживаемость больных опухолями костей с учетом содержания ММП и ТИМП в крови

Общая и безрецидивная выживаемость больных ЗОК

В группе из 105 прослеженных больных ЗОК находились под наблюдением от 1 до 144 месяцев. Из этой группы 19 пациентов умерли от основного заболевания в сроки от 19 до 133 мес от начала лечения. Показатели 1-летней общей выживаемости больных ЗОК составила $94,6 \pm 2,3\%$, 3-летней – $83,8 \pm 4,2\%$, 5-летней – $80,3 \pm 5,3\%$, 10-летней – $53,4 \pm 12,5\%$. Медиана срока жизни больных ЗОК составила 125,1 мес. Показатель 1-летней безрецидивной выживаемости больных ЗОК составил $82,4 \pm 3,9\%$, 3-летней – $55,4 \pm 5,5\%$, 5-летней – $37,4 \pm 7,8\%$, 10-летней – $29,9 \pm 9,2\%$. Медиана срока жизни до прогрессирования заболевания в виде рецидива либо развития метастазов составила 44,2 мес.

Выживаемость больных ОС в зависимости от содержания ММП-2 в сыворотке крови

Рассчитали показатели общей и безрецидивной выживаемости у больных ОС с концентрациями ММП-2 $<$ и ≥ 150 нг/мл.

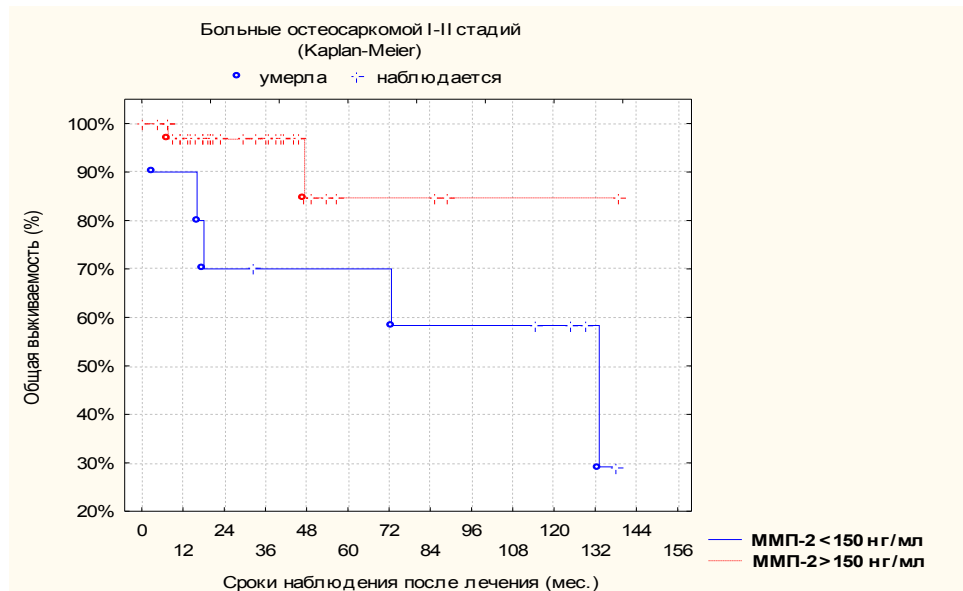


Рисунок 1. Общая выживаемость больных ОС с I-II стадиями в группах с уровнем ММП-2 в сыворотке крови ниже и выше 150 нг/мл.

Лучшие отдаленные результаты лечения выявлены в группе больных ОС с концентрациями ММП-2 в сыворотке крови более 150 нг/мл, однако они не

достоверны. В то же время, в группе больных ОС с I-II стадиями опухолевого процесса установлено статистически значимое снижение общей выживаемости при неблагоприятных «низких» уровнях ММП-2 ($p=0,03$) (рисунок 1). Таким образом, определение сывороточного белка ММП-2 у больных ОС начальных стадий до начала лечения может быть дополнительным фактором в оценке прогноза заболевания.

Выживаемость больных ЗОК в зависимости от содержания ММП-7 в сыворотке крови

В таблице 5 представлены данные выживаемости больных ОС с уровнями ММП-7 менее и более 3,4 нг/мл. Значимые различия выявлены для общей выживаемости (5-летняя – более 30%, $p=0,038$) и тенденция к различию для безрецидивной выживаемости (17%, $p=0,069$).

В то же время у больных СЮ по пороговому значению ММП-7 ниже и выше 3,4 нг/мл различий в показателях выживаемости не выявлено. Достоверные различия в показателях безрецидивной выживаемости отмечены у больных ХС с уровнями ММП-7 ниже и выше 3,4 нг/мл ($p=0,044$).

Таблица 5.

Общая и безрецидивная выживаемость больных ОС
в зависимости от уровней ММП-7 в сыворотке крови

| Остеосаркома | | N | Медиана срока жизни, мес | Общая выживаемость (%) | | | |
|---------------------------|------|----|--------------------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | | | 1-летняя | 3-летняя | 5-летняя | 10-летняя |
| Общая группа | | 57 | 125,7 | 92,1±3,8 | 81,9±5,9 | 76,5±7,6 | 68,0±10,5 |
| ММП-7 нг/мл P=0,03 | <3,4 | 30 | Не дост. | 95,7±4,3 | 95,7±4,3 | 95,7±4,3 | 79,7±14,9 |
| | ≥3,4 | 27 | Не дост. | 88,5±6,3 | 69,4±9,8 | 61,7±11,4 | 61,7±11,4 |
| Остеосаркома | | N | Медиана срока ремиссии, мес | Безрецидивная выживаемость (%) | | | |
| | | | | 1-летняя | 3-летняя | 5-летняя | 10-летняя |
| Общая группа | | 57 | 26,5 | 76,7±5,9 | 42,2±7,5 | 38,0±7,9 | 28,5±10,1 |
| ММП-7 нг/мл, P=0,06 | <3,4 | 30 | 31,1 | 84,2±7,2 | 47,2±11,5 | 47,2±11,5 | 31,5±15,0 |
| | ≥3,4 | 27 | 18,0 | 69,4±9,0 | 36,8±9,8 | 30,6±9,9 | 30,6±9,9 |

Таким образом, определение сывороточной ММП-7 до лечения может служить дополнительным фактором прогноза при ЗОК, в особенности при ХС кости.

Выживаемость больных ЗОК в зависимости от содержания ММП-9 в сыворотке крови

Проведен анализ показателей выживаемости больных ЗОК в зависимости от уровней ММП-9. Наибольшие различия отмечены в группах с уровнями маркера ниже и выше 637 нг/мл. Не выявлено значимой связи концентраций ММП-9 с отдаленными результатами лечения больных ЗОК. Однако у

пациентов с низкими уровнями маркера как общая, так и безрецидивная выживаемости были хуже.

Выживаемость больных ЗОК в зависимости от содержания ТИМП-1 в сыворотке крови

Рассчитали общую и безрецидивную выживаемость больных ЗОК в зависимости от уровней ТИМП-1. Наибольшие различия получены в группах с уровнями белка менее и более медианы концентрации ТИМП-1 у больных ЗОК (343 нг/мл). Несмотря на то, что в каждой по отдельности группе больных ОС, СЮ и ХС показатели общей и безрецидивной выживаемости не зависели от уровня ТИМП-1, в объединенной группе пациентов (СЮ, ХС, НПС, хордома) различия безрецидивной выживаемости при концентрациях сывороточного ТИМП-1 ниже и выше 343 нг/мл были статистически значимы (3-летняя выживаемость снижалась на 27%, 5-летняя на 60% - с 80% до 20%, $p=0,049$).

Выживаемость больных ЗОК в зависимости от содержания ТИМП-2 в сыворотке крови

Рассчитали общую и безрецидивную выживаемость больных ЗОК в зависимости от уровней сывороточного ТИМП-2. За пороговое значение принята концентрация ТИМП-2, наилучшим образом разделявшая общую выживаемость больных ЗОК ($p=0,09$ сильная тенденция к различию) и равная 120 нг/мл. В группе 32 больных ОС показатели общей выживаемости не зависели от уровня маркера, однако 3-летняя безрецидивная выживаемость снижалась при ТИМП-2 более 120 нг/мл на 26%, а в группе 24 больных ХС 3-летняя безрецидивная выживаемость при ТИМП-2 более 120 нг/мл была хуже на 17%.

Многофакторный анализ связи отдаленных результатов лечения больных ЗОК с основными клинико-морфологическими факторами и уровнями маркеров ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1, 2

Многофакторный анализ с включением в модель только уровней изучаемых маркеров, измеренных в сыворотке крови больных ЗОК, показал, что снижение общей выживаемости пациентов в наибольшей степени определяли повышенные сывороточные концентрации ТИМП-2 ($p=0,05$) и ТИМП-1 ($p=0,063$) и в меньшей степени повышенные уровни ММП-7 ($p=0,17$) и сниженные значения ММП-2 ($p=0,24$) (таблица 6).

Таблица 6.

Статистические характеристики анализа связи общей выживаемости больных ЗОК с белками ТИМП-1, 2 и ММП-2, 7, 9
(Proportional hazard Cox Regression)

| Фактор | Beta±St.Err | t-value | Wald Statistic | P |
|--------------------|--------------------|----------------|-----------------------|--------------|
| ММП-2 (150 нг/мл) | -0,64±0,55 | -1,18 | 1,39 | 0,24 |
| ММП-7 (3,4 нг/мл) | 0,67±0,49 | 1,38 | 1,91 | 0,17 |
| ММП-9 (396 нг/мл) | -0,09±0,52 | -0,16 | 0,027 | 0,87 |
| ТИМП-1 (343 нг/мл) | 1,44±0,78 | 1,85 | 3,45 | 0,063 |
| ТИМП-2 (120 нг/мл) | 2,59±1,32 | 1,96 | 3,83 | 0,050 |

Многофакторный анализ с включением в модель только уровней изучаемых маркеров показал, что снижение безрецидивной выживаемости больных ЗОК в наибольшей степени определяли повышенные уровни ТИМП-1 ($p=0,059$) и ММП-7 ($p=0,12$) (таблица 7).

Таблица 7.

Статистические характеристики анализа связи безрецидивной выживаемости больных ЗОК с белками ТИМП-1, 2 и ММП-2, 7, 9
(Proportional hazard Cox Regression)

| Фактор | Beta±St.Err | t-value | Wald Statistic | P |
|--------------------|-------------|---------|----------------|-------|
| ММП-2 (150 нг/мл) | 0,07±0,41 | 0,18 | 0,033 | 0,85 |
| ММП-7 (3,4 нг/мл) | 0,49±0,31 | 1,55 | 2,41 | 0,12 |
| ММП-9 (396 нг/мл) | 0,17±0,36 | 0,47 | 0,22 | 0,64 |
| ТИМП-1 (343 нг/мл) | 0,69±0,37 | 1,89 | 3,56 | 0,059 |
| ТИМП-2 (120 нг/мл) | 0,43±0,44 | 0,98 | 0,95 | 0,39 |

При включении в модель основного прогностического фактора при саркомах костей - стадии заболевания и гистологического типа опухоли - закономерности, определенные для белков ТИМП-1, 2 в прогнозе заболевания были значимы и сопоставимы с таковыми для стадии заболевания ($p=0,011$) (таблица 8).

Таблица 8.

Статистические характеристики анализа связи общей выживаемости больных ЗОК с ТИМП-1, 2, гистологическим строением опухоли, стадией заболевания
(Proportional hazard Cox Regression)

| Фактор | Beta±St.Err | t-value | Wald Statistic | P |
|-----------------------------|-------------|---------|----------------|--------------|
| Стадия | 0,83±0,33 | 2,55 | 6,49 | 0,011 |
| Гистологический тип опухоли | 0,044±0,08 | 0,59 | 0,35 | 0,55 |
| ТИМП-1 (343 нг/мл) | 1,99±0,84 | 2,37 | 5,61 | 0,019 |
| ТИМП-2 (120 нг/мл) | 2,68±1,24 | 2,16 | 4,66 | 0,031 |

В то же время указанные факторы слабее отражали прогноз безрецидивной выживаемости при многофакторном анализе.

Таким образом, при ведении больных ЗОК определение белков ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1, 2 в сыворотке крови до начала лечения может служить дополнительным фактором в оценке прогноза заболевания. Все изучаемые маркеры в той или иной степени имеют прогностическое значение, при этом выявленные закономерности были различны для общей и безрецидивной выживаемости при разных вариантах гистологического строения опухолей костей.

Подводя итог, необходимо отметить, что иммуноферментное определение в периферической крови ММП и ТИМП может быть включено в комплексное обследование пациентов с впервые выявленными опухолями костей для предварительной оценки характера новообразования. В комплексе с клиническими и радиологическими методами обследования пациентов, биохимический анализ изучаемых показателей в сыворотке крови может

помочь в выборе терапевтической тактики до момента гистологической верификации опухоли, которая в случае новообразований костей часто бывает затруднена.

Иммуноферментные методы в последние годы становятся более доступными, постоянно совершенствуются тестовые системы, растет их аналитическая эффективность. Расширяются возможности для автоматизации иммуноферментных исследований, активно внедряются альтернативные методы, такие как иммунохемилюминесцентный анализ, которые позволяют определять широкий спектр маркеров в сыворотке крови.

Иммуноферментные методики открывают возможности для предварительной оценки характера новообразования и прогноза этих заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены статистически значимо низкие уровни ММП-2 и высокие уровни ММП-7 в сыворотке крови больных пограничными и злокачественными опухолями костей, а также низкие уровни ММП-9 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей, по сравнению с контролем.

2. Обнаружено, что содержание ММП-2 и ММП-9 статистически значимо выше в сыворотке крови больных с поражением опухолью губчатых костей, чем трубчатых, при этом уровни ММП-2 положительно коррелировали с возрастом пациентов, а концентрация ММП-7 была статистически значимо ниже в сыворотке крови больных саркомой Юинга.

3. Установлено, что уровни ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в сыворотке крови не связаны с полом пациентов, не отражали стадию опухолевого процесса и степень дифференцировки опухоли кости.

4. Доказано, что сывороточные уровни ТИМП-1 и ТИМП-2 статистически значимо выше у больных пограничными и злокачественными опухолями костей по сравнению с контролем, тесно связаны с гистологическим строением новообразований и не зависят от пола и возраста пациентов, стадии заболевания и степени дифференцировки опухоли.

5. Показано, что уровни исследованных ММП в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей, статистически значимо ассоциированы с общей выживаемостью. У больных саркомой Юинга с исходными уровнями ММП-2 <150 нг/мл 3-летняя общая выживаемость снижалась на 72%, безрецидивная на 48%. У больных остеосаркомой с содержанием ММП-7 $\geq 3,4$ нг/мл в сыворотке крови показатели 5-летней общей выживаемости статистически значимо снижались на 34% ($p=0,038$), безрецидивной на 17% ($p=0,07$), при хондросаркоме 5-летняя общая выживаемость снижалась на 55% ($p<0,05$).

6. Установлено, что наиболее эффективным в оценке прогноза злокачественных опухолей костей является комплекс лабораторных показателей в сыворотке крови ММП-2, ММП-7, ТИМП-1 и ТИМП-2.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам клинической лабораторной диагностики, онкологам, травматологам и ортопедам, работающим в специализированных онкологических стационарах, рекомендуется:

1. Использовать в качестве дополнительных лабораторных маркеров оценки прогноза общей выживаемости больных злокачественными опухолями костей исходные уровни ММП-2 и ММП-7 в сыворотке крови для выявления группы риска. Значимыми факторами неблагоприятного прогноза общей выживаемости следует считать концентрации ММП-2 <150 нг/мл и ММП-7 $\geq 3,4$ нг/мл в сыворотке крови.

2. Исследовать до начала лечения содержание тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ ТИМП-1 (пороговый уровень 343 нг/мл) и ТИМП-2 (пороговый уровень 120 нг/мл) в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей, так как повышенные уровни этих маркеров являются значимыми и независимыми факторами прогноза общей выживаемости у данной категории пациентов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по научной специальности диссертации:

1. Кушлинский, Н.Е. Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы при первичных опухолях костей: клинико-морфологические корреляции / Н.Е. Кушлинский, И.С. Черномаз, Е.С. Герштейн, И.В. Булычева, М.Д. Алиев, Ю.Н. Соловьев // Молекулярная медицина. – 2018. – Т. 16, № 5. – С. 45-50.

2. Черномаз, И.С. Сравнительный анализ тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ при злокачественных и пограничных опухолях костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, И.Н. Кузнецов, И.В. Булычева, М.Д. Алиев // Технологии живых систем. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 16-21.

3. Черномаз, И.С. Показатели выживаемости больных саркомой Юинга и хондросаркомой кости с учетом содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, Е.С. Герштейн, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, И.В. Булычева, М.Д. Алиев // Технологии живых систем. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 15-22.

Прочие научные публикации:

4. Babkina, I.V. Content of metalloproteinases in serum of bone sarcoma patients / I.V. Babkina, I.S. Chernomaz, A.V. Bondarev, M.Yu. Schupak, Yu.N. Soloviev // Proceedings of 21th International Charles Heidelberger Symposium (Moscow, May 25-27, 2016). – P. 53.

5. Бабкина, И.В. Сывороточные матриксные металлопротеиназы и их тканевой ингибитор 1-го типа: корреляция с отдаленными результатами лечения больных саркомами костей / И.В. Бабкина, И.С. Черномаз, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, Ю.Н. Соловьев, А.Н. Махсон, Н.Е. Кушлинский // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19, № 9. – С. 41-45.

6. Черномаз, И.С. Сравнительный анализ содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора 1 типа в сыворотке крови больных опухолями костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, А.В. Бондарев, И.Н. Кузнецов // В материалах III Всероссийской научной конференции молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 12-14 сентября 2016г.) // Медицинский Академический Журнал. – 2016. – Т. 16, № 4. – С. 119-120.

7. Черномаз, И.С. Содержание матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных саркомами костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, Ю.Н. Соловьев // В материалах Второго Российского Конгресса Лабораторной медицины (Москва, 12-14 октября 2016г.) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 9. – С. 557.

8. Черномаз, И.С. Матриксные металлопротеиназы и их тканевой ингибитор 1-го типа в сыворотке крови больных опухолями костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, Е.С. Герштейн, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев // Тезисы докладов в материалах II Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 6-8 декабря 2016г.) // Успехи молекулярной онкологии. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 134-135.

9. Черномаз, И.С. Клиническая характеристика матриксных металлопротеиназ при новообразованиях костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, Е.С. Герштейн, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев // В материалах XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, Крокус-Экспо, 21-23 марта 2017г.) // Лаборатория. – 2017. – № 2. – С. 60.

10. Бабкина, И.В. Содержание рецептора конечных продуктов гликирования RAGE и матриксной металлопротеиназы 2 типа в сыворотке крови больных опухолями костей / И.В. Бабкина, И.С. Черномаз, Е.С. Герштейн, И.Н. Кузнецов, Н.А. Огнерубов, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев, Н.Е. Кушлинский // Вестник Тамбовского Университета. – 2017. – Т. 22, № 2. – С. 283-288.

11. Черномаз, И.С. Содержание матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных с новообразованиями костей / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев // В материалах III Российского Конгресса лабораторной медицины (Москва, 11-13 октября 2017г.) // Лабораторная служба. – 2017. – Т. 6, № 3. – С. 111-112.

12. Черномаз, И.С. Содержание матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных новообразованиями костей. / И.С. Черномаз, А.В. Бондарев, И.Н. Кузнецов, М.Ю. Щупак, И.В. Булычева // В материалах III

Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 6-8 декабря 2017г.) // Успехи молекулярной онкологии. – 2017. – Т. 4, № 4. – С. 126-127.

13. Черномаз, И.С. Сравнительный анализ содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора 1-го типа в сыворотке крови больных новообразованиями костей. / И.С. Черномаз, И.В. Бабкина, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, Ю.Н. Соловьев // В материалах IV Российского конгресса лабораторной медицины (Москва 3-5 октября 2018г.) // Лабораторная служба. – 2018. – Т. 7, № 3. – С. 86.

14. Бабкина, И.В. Отдаленные результаты лечения больных остеосаркомой кости с учетом содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови / И.В. Бабкина, И.С. Черномаз, Е.С. Герштейн, И.Н. Кузнецов, А.В. Бондарев, М.Ю. Щупак, Ю.Н. Соловьев, И.В. Булычева, М.Д. Алиев, Н.Е. Кушлинский // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22, № 2. – С. 35-42.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВКМ – внеклеточный матрикс

ГКО – гигантоклеточная опухоль

ЗОК – злокачественная опухоль кости

ИГХ – иммуногистохимия

ИФА – иммуноферментный анализ

КРР – колоректальный рак

ММП – матриксная металлопротеиназа

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

НПС – недифференцированная плеоморфная саркома

ОС – остеосаркома

РМЖ – рак молочной железы

СЮ – саркома Юинга

ТИМП – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ

ХС – хондросаркома