

СОДЕРЖАНИЕ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 7 ТИПА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ОПУХОЛИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

**Я.З. Плиева¹, В.Д. Ермилова², А.А. Алферов¹, Д.Н. Кушлинский²,
И.В. Терешкина¹, Д.О. Уткин¹, С.В. Хохлова², В.М. Шелепова²,
Р.Э. Кузнецов³, Е.К. Дворова², Ю.Г. Паяниди², К.И. Жордания²**

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

³ Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы

Цель исследования. Сравнительный анализ содержания матриксной металлопротеиназы 7 типа (ММП-7) в сыворотке крови и экстрактах опухоли больных раком яичников, их связь с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

Материалы и методы. Содержание ММП-7 в образцах сыворотки крови и экстрактах опухолей определяли у 54 больных раком яичников в различных стадиях заболевания прямым иммуноферментным анализом реактивами фирмы (Quantikine®, R&D Systems, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Результаты. Концентрации ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников достоверно выше, чем в контроле (медианы 8,0 против 3,8 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). При этом чувствительность ММП-7 в сыворотке крови по пороговому уровню маркера 5,0 нг/мл при разделении больных раком яичников и здоровых женщин составила 77,8%, специфичность — 90,5%. Не обнаружено корреляционной зависимости между содержанием ММП-7 в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников. Содержание ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не связано с возрастом больных, репродуктивным статусом, сопутствующими соматическими и гинекологическими заболеваниями, гистологическим строением опухоли. Однако медиана ММП-7 достоверно повышалась в сыворотке крови и опухоли больных при увеличении стадии рака яичников. Уровни ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не зависели от концентраций СА-125. Отмечено достоверное повышение содержания сывороточного ММП-7 у больных раком яичников при диссеминации опухолевого процесса в брюшной полости и при наличии асцита. Тогда как уровни ММП-7 в первичной опухоли не связаны с выявлением асцита, диссеминацией процесса по брюшной полости и наличием опухолевых клеток в смывах из брюшной полости. Показатель 5-летней общей выживаемости больных раком яичников достоверно снижался со 100% при ММП-7 в сыворотке крови менее 5,0 нг/мл до 58,3% при высоких ММП-7 от 5,0 и более нг/мл ($p = 0,01$). Тогда как 5-летняя общая выживаемость больных раком яичников недостоверно снижалась с 81,5% при ММП-7 в опухоли менее 1,1 нг/мг белка до 60,5% при высоких уровнях ММП-7 от 1,1 и более нг/мг белка ($p = 0,1$). Многофакторный анализ не подтвердил связи исходных уровней ММП-7 в сыворотке крови и экстрактах опухоли с отдаленными результатами лечения больных раком яичников.

Выводы. Сывороточный маркер ММП-7 имеет тесную связь с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками рака яичников, особенностями клинического течения опухолевого процесса и может быть использован как дополнительный тест в диагностике заболевания.

Ключевые слова: рак яичников, ММП-7, сыворотка крови, экстракты опухолей, диагностика, прогноз.

THE CONTENT OF MATRIX METALLOPROTEINASE-7 IN BLOOD SERUM AND TUMOR IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

Ya.Z. Plieva¹, V.D. Ermilova², A.A. Alferov¹, D.N. Kushlinskiy²,
I.V. Tereshkina¹, D.O. Utkin¹, S.V. Khohlova², V.M. Shelepova²,
R.E. Kuznetsov³, E.K. Dvorova², Yu.G. Payanidi², K.I. Zhordania²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of the Higher Education A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,

² Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³ Clinical Hospital S.P. Botkin of the Moscow City Health Department

Objective of the study is to carry out a comparative analysis of the content of MMP-7 in blood serum and tumor extracts of patients with ovarian cancer, to investigate its relationship with the basic clinical and morphological characteristics of the disease and the prognosis.

Materials and Methods. The content of MMP-7 in the samples of blood serum and tumor extracts was determined in 54 patients with ovarian cancer at different stages of the disease using direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reagents of Quantikine® kits (R&D Systems, USA). The measurements were performed using automated immunoassay analyzer BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany).

Results. Concentrations of MMP-7 in the serum of patients with ovarian cancer were significantly higher than those in the control (medians 8,0 vs. 3,8 ng/ml respectively, $p < 0,0001$). In this case, the sensitivity of 77,8% of MMP-7 in the serum at the threshold level of the marker of 5,0 ng/ml and the specificity of 90,5% were obtained for separating a subset of patients with ovarian cancer from healthy women. No correlation was identified between the content of MMP-7 in the serum and the tumor of patients with ovarian cancer. The content of MMP-7 in the serum and the tumor was not associated with patients' age, reproductive status, concomitant somatic and gynecologic diseases, histological structure of the tumor. However, as ovarian cancer progressed, significantly increasing median levels of MMP-7 in blood serum and the tumor of patients were observed. The levels of MMP-7 in serum and tumor were not associated with CA-125 concentrations. A marked elevation in the content of serum MMP-7 in patients with ovarian cancer was observed in the tumor cell dissemination in the peritoneal cavity and in the presence of ascites. Herewith, the MMP-7 levels in primary tumor are not associated with the detection of ascites, dissemination of the process within abdominal cavity and the presence of tumor cells in peritoneal washing specimens. The overall 5-year survival rate for patients with ovarian cancer markedly decreased from 100% with MMP-7 value in serum being less than 5,0 ng/ml to 58,3% with elevated MMP-7 values being from 5,0 ng/ml and higher ($p = 0,01$). At the same time, the overall 5-year survival rate of patients with ovarian cancer not markedly decreased ranging from 81,5% with MMP-7 value in tumor of less than 1,1 ng/ml of protein to 60,5% with elevated MMP-7 levels being from 1,1 ng/ml of protein and higher ($p = 0,1$). The multiple factor analysis didn't confirm the association between initial levels of MMP-7 in serum and tumor extracts and long-term results of the treatment of patients with ovarian cancer.

Conclusions. Serum marker MMP-7 is closely linked to some clinical morphological characteristics of ovarian cancer, particularities of clinical course of tumor process and can be used as a supplementary test for the diagnosis of the disease.

Keywords: ovarian cancer, MMP-7, serum, tumor extracts, diagnosis, prognosis.

Введение. Одно из ключевых фундаментальных свойств злокачественных опухолей — способность к инвазии окружающих тканей и метастазирование в отдаленные органы [1–3]. Причем на всех этапах инвазии и метастазирования опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом (ВКМ), поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеазами [4–6].

Известно, что деградация ВКМ — это неотъемлемая часть не только опухолевой прогрессии, но и многих физиологических процессов, например развития, роста и регенерации ткани. Но в процессе канцерогенеза регуляторные пути, влияющие на деградацию ВКМ, как правило, нарушаются и происходит патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [7].

В настоящее время известно, что во все этапы прогрессирования опухолевого процесса

вовлечены матриксные металлопротеиназы (ММП) — семейство, состоящее из 23 цинк-содержащих эндопептидаз, катализирующих реакции деградации компонентов ВКМ: коллагенов, эластина, ламинина, фибронектина, агреккана и многих других молекул [8].

В зависимости от структурно-функциональных особенностей и субстратной специфичности ММП делят на несколько подсемейств. Основными подсемействами ММП являются коллагеназы широкого спектра действия (например, ММП-1, 8, 13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (ММП-2 и 9), стромелизины (например, ММП-3 и 10), матрилизины (ММП-7, ММП-26), и ММП мембранного типа [9, 10].

Доказано, что активация ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (ТИМП) [11], которые соединяются с цинк-связывающими участками активных ММП в эквимолярном соотношении. ТИМП образуют прочные комплексы как с активными формами ММП, так и с их секретруемыми проферментами, регулируя посредством этого их активность [12, 13].

Известно, что семейство ТИМП состоит из 4-х структурно родственных белков, три из которых — ТИМП-1, 2 и 4 — секретируются в растворимой форме, а один — ТИМП-3 — связан с ВКМ. ТИМП индуцируют изменения морфологии клетки, стимулируют рост некоторых типов клеток, участвуют в стероидогенезе и в развитии герминогенных клеток обоих полов. По своей структуре ТИМП высоко специфичны к активному связывающему участку ММП (по принципу ключ — замок) и ингибируют весь спектр ММП.

Роль ММП в прогрессии и метастазировании опухолей впервые определена Liotta с соавт. в начале 1980-х годов, когда был обнаружен протеолиз коллагена IV типа в процессе инвазии и метастазирования меланомы кожи и стало ясно, что он обусловлен, главным образом, протеолитической активностью ММП-2 и/или ММП-9 [14].

Первоначально предполагали, что опухолевые клетки самостоятельно вырабатывают ММП, а стромальные клетки индуцируют секрецию ММП опухолями. Позднее была сформули-

рована концепция о том, что стромальные клетки сами также могут экспрессировать ММП. Анализ методом гибридизацией *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют ММП даже чаще, чем опухолевые [15, 16].

Выделение многих ММП клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки, является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако существуют исключения, например: матрилизин (ММП-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли, в случае ММП-2 известно, что ее мРНК продуцируется преимущественно стромальными клетками, но сам фермент секретируется и активируется на границе опухолевой и нормальной ткани [17].

В последние годы ММП активно изучают при различных опухолях человека: колоректальном раке [18, 19], раке желудка [20–22], поджелудочной железы [23], легкого [24], молочной железы [25], яичников [26–28], опухолях костей [29, 30].

Среди указанных ММП особое внимание заслуживает ММП-7, исследования которой довольно широко проводятся в различных онкологических клиниках и уже получены предварительные данные о ее связи с основными клинико-морфологическими характеристиками опухолей человека [1, 13, 18, 21, 31]. Однако в литературе представлены единичные исследования по одновременному изучению концентрации ММП-7 в сыворотке крови и экспрессии в первичной опухоли больных раком яичников.

Цель настоящего исследования — анализ связи сывороточных уровней и экспрессии в первичных опухолях ММП-7 у больных раком яичников и ее связь с клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

Материалы и методы. Обследовали 54 нелеченных больных раком яичников в возрасте от 23 до 74 лет (средний возраст $53,2 \pm 1,9$ лет) в различных стадиях опухолевого процесса (по FIGO): Ia — 4 (7,4%), Ib — 1 (1,8%), Ic — 9 (16,7%), IIa — 3 (5,6%), IIb — 2 (3,7%), IIIa — 2 (3,7%), IIIb — 2 (3,7%), IIIc — 23 (42,6%), IV — 8 (14,8%).

В репродуктивном возрасте было 26 (48,2%) больных раком яичников, 23 (42,6%) — в постменопаузе, у 5 (9,2%) отмечена дисменорея.

Группу контроля составили 120 практически здоровых женщин соответствующего возраста.

Преобладали больные раком яичников без других сопутствующих гинекологических заболеваний — 39 (72,2%). У 15 из 54 пациенток выявлены сопутствующие гинекологические заболевания: миома матки — 8 (14,8%), киста яичников — 4 (7,4%), бесплодие — 2 (3,7%), у 1 больной выявлена дисфункция яичников.

У всех больных клинический диагноз рака яичников подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно «Гистологической классификации опухолей женских репродуктивных органов» (ВОЗ, 2014) [32]. Серозный рак яичников выявлен у 35 (64,68%) больных, муцинозный — у 5 (9,2%), эндометриодный — у 6 (11,1%), светлоклеточный — у 3 (5,6%), редкие варианты — у 5 (9,3%).

Диссеминация по брюшине выявлена у 39 (72,2%) больных раком яичников, асцит обнаружен у 19 (35,2%) пациенток. Опухолевые клетки в смывах из брюшной полости выявлены у 37 из 49 (75,5%) больных раком яичников.

Все больные получили лечение: 4 (7,4%) пациенткам выполнено хирургическое удаление опухоли, 5 (9,3%) — проведена полихимиотерапия с последующим хирургическим удалением опухоли, 3 (5,6%) больным полихимиотерапия проведена как до, так и после хирургического лечения. Большинству больных раком яичников 34 (63,0%) проведено хирургическое лечение с последующей химиотерапией, еще 8 (14,8%) больным выполнена операция и проведена полихимиотерапия и лучевое лечение.

Отдаленные результаты лечения за 5-летний срок наблюдения оценены у 48 из 54 (88,9%) больных раком яичников.

Содержание ММП-7 в образцах сыворотки крови и экстрактах первичных опухолей определяли у 54 больных раком яичников с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа фирмы Quantikine®, R&D Systems, США в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Концентрацию опухолевого маркера СА-125 определяли иммуноферментным методом (ELISA) в сыворотке крови с помощью реактивов фирмы («Roche», Швейцария). Измерения проводили на электрохемилюминисцентном анализаторе «ЕС-300» фирмы («Roche»).

Статистический анализ результатов исследования. Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова. Для числовых признаков с распределением, соответствующим распределению Гаусса, рассчитывали средние значения числовых признаков, стандартное отклонение. Достоверность различий рассчитывали дисперсионным анализом. При количестве групп более двух p рассчитывали с учетом множественности сравнений (по критерию Scheffe). Для анализа связанных значений применяли T-test.

Для признаков с распределением, значительно отличающимся от нормального, рассчитывали медиану, квартили 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). Для связанных значений применяли критерий Wilcoxon matched pairs test.

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 Pearson (Spearman для непараметрических данных) с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости.

Выживаемость оценивали по методу Kaplan & Meier, сравнение кривых выживаемости рассчитывали с помощью Log-Rank test.

При выборе статистических процедур учитывались методологические требования Международного конгресса по гармонизации GGP «Статистические принципы для клинических исследований», (ICH Guidelines // Good Clin. Pract. J. 1998;5(4): 27–37).

Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников и здоровых женщин группы контроля

Группа	N	ММП-7 в сыворотке крови, нг/мл			P Mann-Whitney test
		Пределы	Медиана; квартили	95%ДИ	
Контроль	21	2,0–9,0	3,8; 3,1–4,5	2,4–5,0	< 0,0001
Рак яичников	54	2,5–50,6	8,0; 5,1–14,7	3,4–43,6	
		≤ 5,0		> 5,0	
Контроль	21	19 (90,5%)		2 (9,5%)	< 0,0001
Рак яичников	54	12 (22,2%)		42 (77,8%)	

пакетов «STATISTICA» и SPSS в отделе информационных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Результаты исследования

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников. Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников колебалось в широких пределах от 2,5 до 51 нг/мл и было высокодостоверно ($p < 0,0001$) выше по сравнению с таковыми показателями у здоровых женщин группы контроля (табл. 1). Так, медианы маркера в указанных группах составили 8,0 и 3,8 нг/мл. Верхнее значение 95% ДИ в контроле равнялось 5,0 нг/мл.

Дополнительно значения сывороточного ММП-7 были разбиты на два интервала: 1) $\leq 5,0$ нг/мл, 2) $> 5,0$ нг/мл (табл. 1). У 90,5% здоровых женщин значения концентраций ММП-7 в сыворотке крови были менее 5,0 нг/мл, а у больных раком яичников, напротив,

преобладали концентрации белка более 5,0 нг/мл (77,8%, $p < 0,0001$). Специфичность порогового уровня ММП-7, равного 5,0 нг/мл, составила 77,8%, чувствительность 90,5%, что указывает на приемлемые диагностические характеристики маркера при разделении группы здоровых женщин и больных раком яичников.

С помощью построения кривых ROC получено наилучшее соотношение чувствительности и специфичности при разделении больных раком яичников и контроля по уровню сывороточного ММП-7, равного 4,6 нг/мл (чувствительность 83,3%, специфичность 81,0%). Однако в дальнейшем использовали пороговый уровень ММП-7, равный 5,0 нг/мл.

Не выявлено корреляционной зависимости между содержанием ММП-7 в сыворотке крови и возрастом больных раком яичников ($r = 0,11$; $p = 0,44$). Дисперсионный анализ также не выявил связи показателей ММП-7 с возрастом больных раком яичников (табл. 2).

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от возраста

Возраст, лет	N	ММП-7 в сыворотке крови (нг/мл)		Частота значений ММП-7 ≥ 5 нг/мл
		Медиана	Квартили	
До 40	9	7,4	3,4–16,2	5 (55,6%)
40–49	9	10,0	5,0–15,3	7 (77,8%)
50–59	20	9,1	5,3–15,7	16 (80,0%)
60–69	8	7,9	5,5–9,5	7 (87,5%)
70 и более	8	8,9	6,0–26,1	7 (87,5%)
P		$> 0,05$		0,5

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от стадии заболевания

Стадия	N	ММП-7 в сыворотке крови (нг/мл)		Частота значений ММП-7 ≥ 5 нг/мл
		Медиана	Квартили	
Ia-Ib	5	3,5	3,4–5,5	2 (40,0%)
Ic	9	6,7	4,6–8,0	6 (66,7%)
IIa-IIb	5	6,4	3,7–9,2	2 (40,0%)
IIIa-IIIb	4	5,1	4,2–8,5	2 (50,0%)
IIIc	23	11,4	7,4–21,0	22 (95,7%)
IV	8	11,2	8,1–43,4	8 (100%)
P		1, 2, 3, 4 vs 5, 6 < 0,05		0,008

Не различались достоверно медианы уровней ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников с сохраненной репродуктивной функцией (9,5 нг/мл) и у пациенток в постменопаузе (7,4 нг/мл; $p > 0,05$).

Не выявлено достоверных различий в содержании ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников с различными соматическими заболеваниями и без таковых: медиана ММП-7 составила 6,4 нг/мл у 11 больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями; 10,7 нг/мл — у 22 больных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта; 6,4 нг/мл — у 10 больных без сопутствующих соматических патологий. У 15 больных раком яичников не установлено связи уровней ММП-7 в сыворотке крови с наличием других сопутствующих гинекологических патологий ($p > 0,3$).

Не установлено статистически значимой корреляционной зависимости между содержанием

ММП-7 в ткани опухоли и концентрации СА-125 в сыворотке крови больных раком яичников ($r = 0,11$; $p = 0,4$). Дисперсионный анализ выявил наименьшую медиану сывороточной ММП-7 (3,4 нг/мл) в группе пациенток с наименьшими концентрациями СА-125 (менее 35 Ед/л), однако различия статистически незначимы.

Концентрации сывороточного ММП-7 достоверно отражали стадию рака яичников (табл. 3). Достоверно низкие уровни ММП-7 обнаружены в сыворотке крови больных раком яичников с Ia-IIIb стадиями, по сравнению с IIIc-IV стадиями ($p < 0,05$). Высокие концентрации ММП-7 (более 5,0 нг/мл) наиболее часто выявляли у пациенток с IIIc-IV стадиями рака яичников (96–100%).

Следует отметить достоверное повышение концентрации ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников при увеличении размера первичной опухоли по данным УЗИ (табл. 4, рис. 1).

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от размера первичной опухоли по данным УЗИ

Размеры опухоли	N	ММП-7 в сыворотке крови (нг/мл)		Частота значений ММП-7 ≥ 5 нг/мл
		Медиана	Квартили	
До 5 см	3	3,4	2,5–4,3	0
5–9 см	5	5,5	4,7–6,7	3 (60,0%)
От 10 см	12	7,8	5,2–9,5	9 (75,0%)
Двустороннее поражение	34	10,7	5,7–21,0	30 (88,2%)
P		1, 2, 3 vs 4 < 0,05		0,01

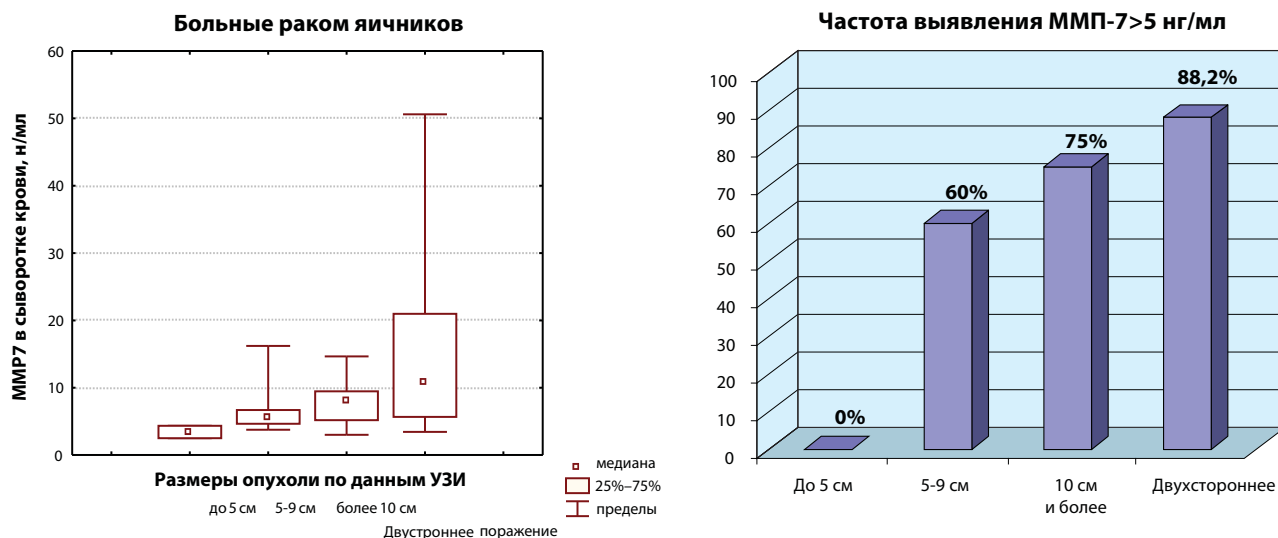


Рис. 1. Содержание сывороточного ММП-7 в зависимости от размера опухоли, по данным УЗИ

При анализе концентраций сывороточного ММП-7 у пациенток с наличием и отсутствием асцита также выявлены достоверные различия медиан маркера (11,5 против 6,7 нг/мл соответственно; $p = 0,0002$).

Не обнаружено достоверных различий в медианах содержания ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников при наличии и отсутствии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости (8,7 и 6,1 нг/мл соответственно, $p < 0,064$).

Не выявлено значимых различий в содержании сывороточного ММП-7 в группах больных раком яичников с учетом гистологического строения опухоли, однако при муцинозном и эндометриоидном вариантах опухоли концентрации ММП-7 были заметно снижены (табл. 5).

Содержание ММП-7 в опухоли больных раком яичников. Медиана содержания ММП-7 в опухолях больных раком яичников составила 3,3 нг/мг белка (пределы колебания 1,1–8,5 нг/мг белка), нижняя и верхняя квартиль равнялась 1,1 и 8,5 нг/мг белка соответственно. Следует отметить, что не обнаружено корреляционной зависимости между содержанием ММП-7 в сыворотке крови и опухоли в общей группе больных раком яичников ($r = -0,15$; $p < 0,3$).

Не выявлено достоверной корреляционной зависимости между содержанием ММП-7 в опухоли больных раком яичников и возрастом пациенток, репродуктивным статусом, сопутствующими заболеваниями и концентрацией СА-125 в сыворотке крови.

Таблица 5

Содержание ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников в зависимости от гистологического строения опухоли

Гистологическое строение рака яичников	N	ММП-7 в сыворотке крови (нг/мл)		Частота значений ММП-7 ≥ 5 нг/мл
		Медиана	Квартили	
Серозный	35	10,7	5,7–21,0	30 (85,7%)
Муцинозный	5	7,8	6,4–8,0	5 (100%)
Эндометриоидный	6	3,9	3,4–8,2	2 (33,3%)
Светлоклеточный	3	5,4	4,8–10,2	2 (66,7%)
Редкие варианты	5	5,5	3,4–8,0	3 (60,0%)
P		1 vs 3 = 0,057		0,4

Содержание ММП-7 в опухоли больных раком яичников в зависимости от стадии заболевания

Стадия	N	ММП-7 в опухоли (нг/мг белка)		Частота значений ММП-7 $\geq 8,5$ нг/мг белка
		Медиана	Квартили	
Ia-Ib	5	2,1	0,2–3,7	1 (20,0%)
Ic	9	6,3	4,0–11,3	3 (33,3%)
IIa-IIb	5	1,1	0,3–2,1	0
IIIa-IIIb	4	1,4	0,8–2,1	0
IIIc	23	6,1	1,6–8,5	5 (21,7%)
IV	8	4,7	1,0–11,2	3 (37,5%)
P		1 vs 2 < 0,05; 2 vs 3, 4 < 0,05		0,55

Провели анализ содержания ММП-7 в опухоли больных раком яичников со стадией рака яичников и выявили следующие особенности, которые представлены в табл. 6. В группе больных раком яичников с наличием диссеминации по брюшине экспрессия ММП-7 в первичной опухоли не отличалась от такового показателя у пациенток при ее отсутствии (3,7 против 2,6 нг/мг белка соответственно, $p = 0,6$).

При анализе концентраций ММП-7 в опухолях больных раком яичников с наличием и отсутствием асцита достоверных различий медиан маркера не обнаружено (3,0 против 4,0 нг/мг белка соответственно, $p = 0,9$).

Также не выявлено значимых различий в содержании ММП-7 в опухоли больных раком яичников при наличии и отсутствии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости (3,7 и 1,4 нг/мг белка соответственно).

Не выявили связи между уровнями ММП-7 в опухоли больных раком яичников и гистологическим строением опухоли (табл. 7).

Выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней сывороточного ММП-7. Прослежены 48 из 54 больных раком яичников, коэффициент прослеженности составил 89%. Пациенток разделили на 4 группы, ориентируясь на медиану и квартили содержания сывороточного ММП-7, в которых были рассчитаны показатели общей выживаемости (табл. 8, рис. 2).

Как следует из данных таблицы 8 и рисунка 1, показатель 5-летней общей выживаемости больных раком яичников был заметно выше в группе с низкими концентрациями сывороточного ММП-7 (менее 5,0 нг/мл) и составил 100%, тогда как при больших концентрациях колебалась от 47 до 59%.

Содержание ММП-7 в опухоли больных раком яичников в зависимости от гистологического строения опухоли

Гистологическое строение рака яичников	N	ММП-7 в опухоли (нг/мг белка)		Частота значений ММП-7 $\geq 8,5$ нг/мг белка
		Медиана	Квартили	
Серозный	35	4,1	1,6–8,5	7 (20,0%)
Муцинозный	5	9,1	3,7–19,7	3 (60,0%)
Эндометрионный	6	4,2	1,0–9,4	2 (33,3%)
Светлоклеточный	3	1,6	1,0–6,4	0
Редкие варианты	5	0,2	0,02–0,2	0
P		0,5		0,54

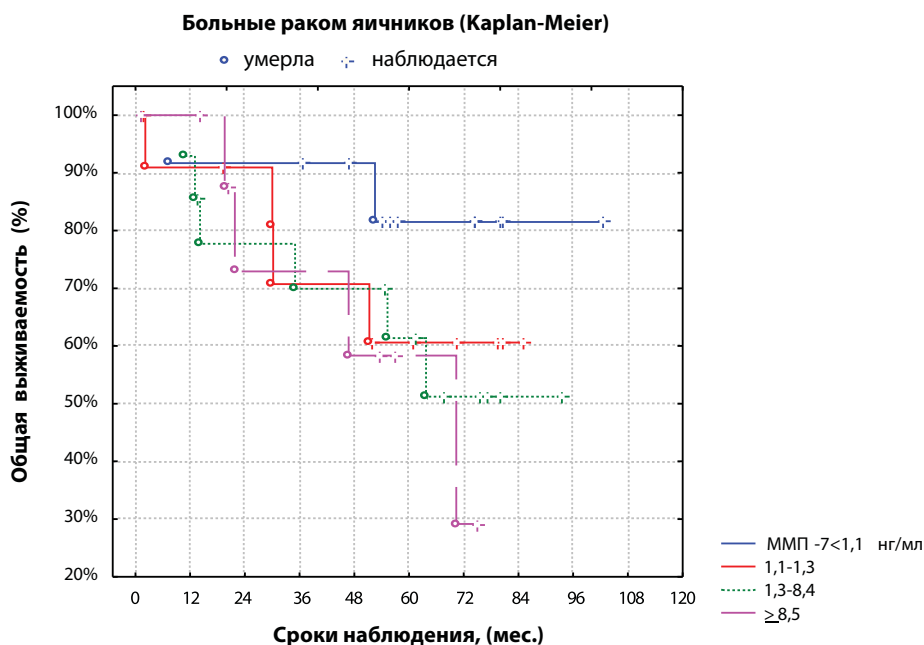


Рис. 2. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровня ММП-7 в сыворотке крови

При разделении больных раком яичников по порогу сывороточного ММП-7, равному 5,0 нг/мл, различия в показателях общей выживаемости были статистически значимыми ($p = 0,013$) (табл. 9, рис. 3).

Таким образом, только 10 из 48 (20,8%) больных раком яичников имели благоприятный прогноз по сывороточному ММП-7 и смогли пережить 5 лет после проведенного лечения.

Однако при **многофакторном** анализе, концентрация ММП-7 в сыворотке крови не вошла в число значимых факторов прогноза отдаленных результатов лечения больных раком яичников, к которым можно отнести только стадию заболевания ($p = 0,04$) и уровни СА-125 в сыворотке крови ($p = 0,068$) (табл. 10).

Частота выявления благоприятных значений ММП-7 (менее 5,0 нг/мл) выявлена у 10 из 22 (45,5%) больных раком яичников с I, II, IIIa стадиями и только в 2 из 31 (6,5%) наблюдений с IIIc–IV стадиями. Частота выявления благоприятных значений ММП-7 (менее 5,0 нг/мл) выявлена у 4 из 8 (50,0%) больных с уровнями СА-125 менее 100 Ед/л и у 7 из 43 (16,3%) пациентов с уровнями СА-125 от 100 Ед/л и более.

Больные раком яичников были разделены по медиане и квартилям содержания ММП-7 в опухоли на 4 группы, в которых были рассчитаны показатели общей выживаемости (табл. 11, рис. 4).

Как следует из данных таблицы 11, 5-летняя общая выживаемость больных раком яичников

Таблица 8

Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней сывороточного ММП-7

ММП-7 в сыворотке крови, нг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 5,0	10	Не достигнута	100	100	100
5,0–7,99	14	Не достигнута	100	75,5±12,3	58,7±14,2
8,0–14,9	12	54,2	75,0±12,5	58,3±14,2	46,7±15,4
15,0 и более	12	59,9	100	73,3±13,2	58,6±16,9
P			0,34		

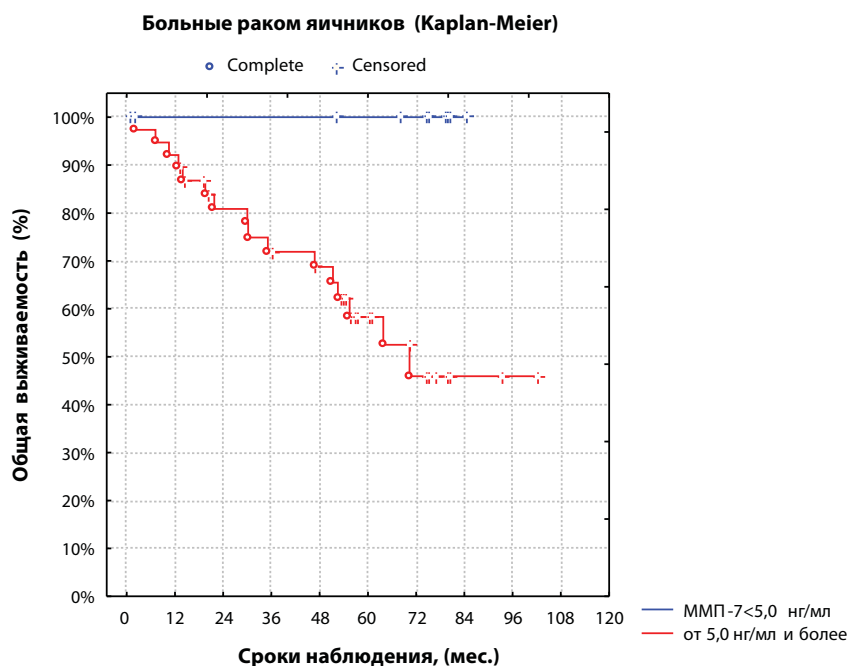


Рис. 3. Общая выживаемость больных раком яичников при уровне ММП-7 в сыворотке крови ниже и выше 5,0 нг/мл

была заметно выше в группе с наименьшей экспрессией ММП-7 в опухоли (менее 1,1 нг/мг) белка и составила $81,5 \pm 11,9\%$, тогда как при больших ее уровнях была примерно равной (61–58%).

При **многофакторном** анализе, экспрессия ММП-7 в первичной опухоли не вошла в число значимых факторов прогноза отдаленных результатов лечения больных раком яичников, к которым можно отнести только стадию заболевания и уровни СА-125 в сыворотке крови (табл. 12).

Выводы

1. Медиана концентрации ММП-7 в сыворотке крови больных раком яичников достоверно выше, чем в контроле (8,0 против

3,8 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). При этом чувствительность ММП-7 в сыворотке крови по пороговому уровню маркера 5,0 нг/мл при разделении больных раком яичников и здоровых женщин составила 77,8%, специфичность — 90,5%.

2. Не обнаружено корреляционной зависимости между содержанием ММП-7 в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников.

3. Содержание ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не связано с возрастом больных раком яичников, репродуктивным статусом, сопутствующими соматическими и гинекологическими заболеваниями, гистологическим строением опухоли. Однако медиана ММП-7 достоверно повышалась в сыворотке крови и опухоли больных при увеличении стадии рака яичников.

Таблица 9

Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от сывороточного ММП-7 по поругу 5,0 нг/мл

ММП-7 в сыворотке крови, нг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 5,0	10	Не достигнута	100	100	100
≥ 5,0	38	65,1	92,1±4,4	71,9±7,6	58,3±8,7
P			0,0134		

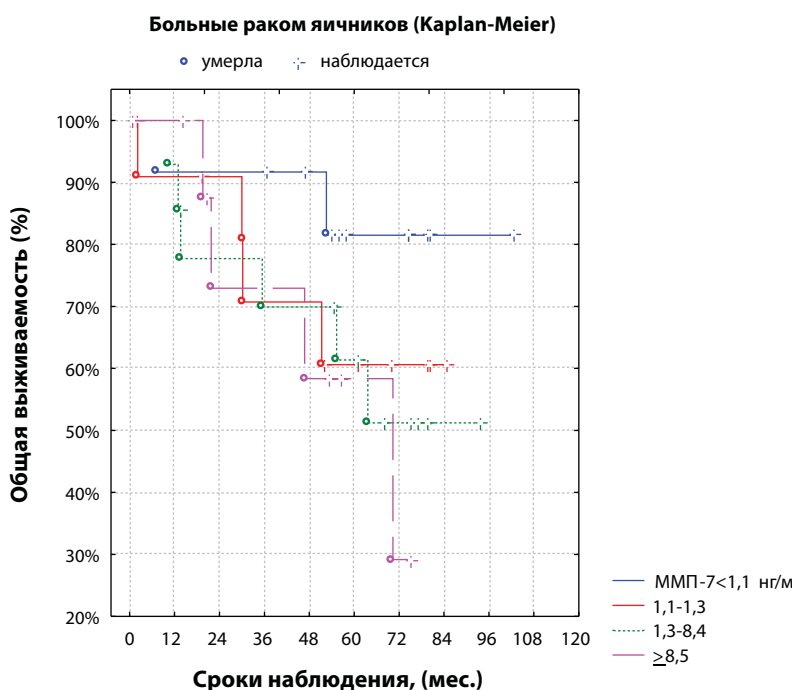


Рис. 4. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней ММП-7 в опухоли

4. Уровни ММП-7 в сыворотке крови и опухоли не зависели от концентраций СА-125.

5. Отмечено достоверное повышение содержания сывороточного ММП-7 у больных раком яичников при диссеминации опухолевого про-

цесса в брюшной полости и при наличии асцита. Тогда как уровни ММП-7 в первичной опухоли не связаны с выявлением асцита, диссеминацией процесса по брюшной полости и наличием опухолевых клеток в смывах из брюшной полости.

Таблица 10

Статистические характеристики факторов прогноза выживаемости больных раком яичников (Proportional hazard (Cox) Model)

Факторы	$\beta \pm m$	t-value	Wald Statistics	P
СА-125	0,84±0,46	1,82	3,33	0,068
Стадия	0,088±0,043	2,05	4,21	0,04
Размер опухоли	0,82±0,66	1,25	1,56	0,21
ММП-7, нг/мл	-0,02±0,02	0,89	0,78	0,38

Таблица 11

Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от уровней ММП-7 в опухоли

ММП-7 в опухоли, нг/мл белка	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)		
			1-летняя	3-летняя	5-летняя
< 1,1	12	Не достигнута	91,7±7,9	91,7±7,9	81,5±11,9
1,1-1,29	12	Не достигнута	90,9±8,7	70,7±14,3	60,6±15,4
1,3-8,4	14	Не достигнута	92,9±6,9	70,1±12,6	61,4±13,7
8,5 и более	10	53,5	100	72,9±16,5	58,3±18,6
P			0,56		

**Статистические характеристики факторов прогноза выживаемости больных раком яичников
(Proportional hazard (Cox) Model)**

Факторы	$\beta \pm m$	t-value	Wald Statistics	P
CA-125	0,79±0,46	1,71	2,92	0,088
Стадия	0,092±0,046	1,98	3,91	0,048
Размер опухоли	0,37±0,71	0,53	0,28	0,60
ММП-7 нг/мл	0,84±0,87	0,96	0,92	0,34

6. Показатель 5-летней общей выживаемости больных раком яичников достоверно снижался со 100% при ММП-7 в сыворотке крови менее 5,0 нг/мл до 58,3% при высоких ММП-7 (от 5,0 и более нг/мл) ($p = 0,01$). Тогда как 5-летняя общая выживаемость больных раком яичников недостоверно снижалась с 81,5% при

ММП-7 в опухоли менее 1,1 нг/мл белка до 60,5% при высоких уровнях ММП-7 белка (от 1,1 и более нг/мл) ($p = 0,1$). Однако многофакторный анализ не подтвердил связи исходных уровней ММП-7 в сыворотке крови и опухоли с отдаленными результатами лечения больных раком яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Ассоциированные с опухолью протеазы и их тканевые ингибиторы. В кн.: «Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования» / под ред. Н.Е. Кушлинского и М.А. Красильникова. — М.: Издательство РАМН, 2017; 197–230.
2. Isaacson K.J., Martin Jensen M., Subrahmanyam N.B., Ghandehari H. Matrix-metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: An analysis of upregulation and expression. *J. Control Release.* — 2017;259: 62–75.
3. Li Z., Takino T., Endo Y., Sato H. Activation of MMP-9 by membrane type-1 MMP/MMP-2 axis stimulates tumor metastasis. *Cancer Sci.* 2017;108(3): 347–353.
4. Ramachandran R.K., Sørensen M.D., Aaberg-Jessen C., Hermansen S.K., Kristensen B.W. Expression and prognostic impact of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in astrocytomas. *PLoS One.* — 2017;12(2): e0172234.
5. Holanda A.O., Oliveira A.R., Cruz K.J., Severo J.S., Morais J.B., Silva B.B., Marreiro D.D. Zinc and metalloproteinases 2 and 9: What is their relation with breast cancer? *Rev. Assoc. Med. Bras.* (1992). — 2017;63(1): 78–84.
6. Xiong J., Gao H. Matrix metalloproteinases-responsive nanomaterials for tumor targeting diagnosis and treatment. *J. Microencapsul.* — 2017;34(5): 440–453.
7. Duffy M.J., McGowan P.M., Gallagher W.M. Cancer invasion and metastasis: changing views. *J. Pathol.* — 2008;214(3): 283–293.
8. Шадрина А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., Морозов А.П., Филипенко М.Л., Чанг В.Л., Кушлинский Н.Е. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии. *Альманах клинической медицины.* 2017;45(4): 266–279.
9. Westermarck J., Kahari V.M. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J.* 1999;13(8): 781–792.
10. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.* — 2003;92(8): 827–839.
11. Jackson H.W., Defamie V., Waterhouse P., Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* — 2017;17(1): 38–53.
12. Ramnath N., Creaven P.J. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Curr. Oncol. Rep.* — 2004;6(2): 96–102.
13. Juchniewicz A., Kowalczyk O., Milewski R., Ludański W., Dziegielewski P., Kozłowski M., Nikliński J. MMP-10, MMP-7, TIMP-1 and TIMP-2 mRNA expression in esophageal cancer. *Acta Biochim. Pol.* — 2017;64(2): 295–299.
14. Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S., Hart I., Foltz C.M., Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature.* — 1980;284(5751): 67–68.
15. Furuya M., Ishikura H., Nemori R., Shibata M., Fujimoto S., Yoshiki T. Clarification of the active gelatinolytic sites in human ovarian neoplasms using in situ zymography. *Hum. Pathol.* — 2001;32(2): 163–168.

16. Kamat A.A., Fletcher M., Gruman L.M., Mueller P., Lopez A., Landen C.N. Jr., Han L., Gershenson D.M., Sood A.K. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* — 2006;12(6): 1707–1714.
17. Deryugina E.I., Quigley J.P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* — 2006;25(1): 9–34.
18. 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): 1585–1593.
19. Hensley H., Cooper H.S., Chang W.L., Clapper M.L. Imaging Matrix Metalloproteases in Spontaneous Colon Tumors: Validation by Correlation with Histopathology. *Methods Mol. Biol.* — 2017;1579: 245–255.
20. Lukaszewicz-Zajac M., Szmitkowski M., Litman-Zawadzka A., Mroczko B. Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Comparison to Other Inflammatory Proteins in Gastric Cancer (GC). *Cancer Invest.* — 2016;34(7): 305–312.
21. Lu L., Ma G.Q., Liu X.D., Sun R.R., Wang Q., Liu M., Zhang P.Y. Correlation between GDF15, MMP7 and gastric cancer and its prognosis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* — 2017;21(3): 535–541.
22. Yao Z., Yuan T., Wang H., Yao S., Zhao Y., Liu Y., Jin S., Chu J., Xu Y., Zhou W., Yang S., Liu Y. MMP-2 together with MMP-9 overexpression correlated with lymph node metastasis and poor prognosis in early gastric carcinoma. *Tumour Biol.* 2017;39(6):1010428317700411. doi: 10.1177/1010428317700411.
23. Jakubowska K., Pryczynicz A., Januszewska J., Sidorkiewicz I., Kemona A., Niewiński A., Lewczuk Ł., Kędra B., Guzińska-Ustymowicz K. Expressions of Matrix Metalloproteinases 2, 7, and 9 in Carcinogenesis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Dis. Markers.* 2016;2016:9895721. doi: 10.1155/2016/9895721.
24. Merchant N., Nagaraju G.P., Rajitha B., Lammata S., Jella K.K., Buchwald Z.S., Lakka S.S., Ali A.N. Matrix metalloproteinases: their functional role in lung cancer. *Carcinogenesis.* — 2017 Jun 16. doi: 10.1093/carcin/bgx063. [Epub ahead of print].
25. Cid S., Eiro N., González L.O., Beridze N., Vazquez J., Vizoso F.J. Expression and Clinical Significance of Metalloproteases and Their Inhibitors by Endothelial Cells From Invasive Breast Carcinomas. *Clin. Breast Cancer.* — 2016;16(4): e83–91.
26. Mieszalo K., Ławicki S., Szmitkowski M. The utility of metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in diagnostics of gynecological malignancies. *Pol. Merkur. Lekarski.* — 2016;40(237): 193–197.
27. Rasool M., Malik A., Basit Ashraf M.A., Parveen G., Iqbal S., Ali I., Qazi M.H., Asif M., Kamran K., Iqbal A., Iram S., Khan S.U., Mustafa M.Z., Zaheer A., Shaikh R., Choudhry H., Jamal M.S. Evaluation of Matrix Metalloproteinases, Cytokines and Their Potential Role in the Development of Ovarian Cancer. *PLoS One.* — 2016;11(11): e0167149.
28. Zhang Y., Chen Q. Relationship between matrix metalloproteinases and the occurrence and development of ovarian cancer. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2017;50(6): e6104. doi: 10.1590/1414-431X20176104.
29. Бабкина И.В., Черномаз И.С., Бондарев А.В., Щупак М.Ю., Соловьев Ю.Н., Махсон А.Н., Кушлинский Н.Е. Сывороточные матриксные металлопротеиназы и их тканевой ингибитор 1-го типа: корреляция с отдаленными результатами лечения больных саркомами костей. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2016;19(9): 41–45.
30. Zhou X., Liu X.Z., Fan G.T., Wu S.J., Zhao J.N., Shi X. Expression of Matrix Metalloproteinase-9 and CD34 in Giant Cell Tumor of Bone. *Orthop. Surg.* — 2016;8(2): 220–225.
31. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Пророков В.В. Прогностическое значение ассоциированных с опухолью протеаз при раке толстой кишки. *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.* — 2012;154(9): 350–55.
32. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs Ed. by Kurman R.J., Carangin M.L., Herrington S.S., Young R.H. International Agency for Research on Cancer. Lyon. Tumors of the ovary. — 2014; 8–83.

АВТОРЫ

Плиева Яна Зурабовна, соискатель, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Делегатская улица, 20, стр. 1, e-mail: biochimia@yandex.ru

Plieva Ya.Z., applicant, Moscow State Medical-Stomatological University after name A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Delegatskaya street, 20, p. 1, e-mail: biochimia@yandex.ru

Ермилова Валерия Дмитриевна, кандидат медицинских наук, вед. научн. сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Ermilova V.D., Ph.D. (Med.), Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Терешкина Ирина Владимировна, кандидат медицинских наук, гинеколог, соискатель, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Делегатская улица, 20, стр. 1.

Tereshkina I.V., Ph.D. (Med.), Applicant, Moscow State Medical-Stomatological University after name A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Delegatskaya street, 20, p. 1

Опухоли придатков матки

Кушлинский Дмитрий Николаевич, кандидат медицинских наук, онкогинеколог, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Kushlinsky D.N., Ph.D. (Med.), oncogynecologist, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Шелепова Валентина Михайловна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Shelepova V.M., Ph.D. (Biol.), laboratory of oncoimmunology, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Кузнецов Роберт Эдуардович, доктор медицинских наук, зав. отделением гинекологии городской клинической больницы им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы, Россия, Москва, 2-й Боткинский проезд, 5, стр. 71.

Kuznetsov R.E., Ph.D. (Med.), Head of the Gynecology Department of the State Clinical Hospital S.P. Botkin of the Moscow City Health Department, Russia, Moscow, 2-nd Botkinsky travel, 5, p. 71.

Уткин Дмитрий Олегович, соискатель, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Делегатская улица, 20, стр. 1.

Utkin D.O., Applicant, Moscow State Medical-Stomatological University after name A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Delegatskaya street, 20, p. 1.

Хохлова Светлана Викторовна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Khohlova S.V., Ph.D. (Med.), Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Дворова Елена Кузьминична, инженер-статист, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

Dvorova E.K., Statistic Engineer, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24.

Алферов А.А., аспирант, Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Делегатская улица, 20, стр. 1.

Alferov A.A., Post-graduate Student, Moscow State Medical Stomatological University after name A.I. Evdokimov of the Ministry of Health of Russia (Moscow), Moscow, Delegatskaya street, 20, p. 1.

Паяниди Юлия Геннадиевна, доктор медицинских наук, с.н.с. отделения гинекологического, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24, e-mail: paian-u@yandex.ru

Payanidi Uliya Gennadijevna, Ph.D., gynecological department, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24. E-mail: paian-u@yandex.ru

Жордания Кирилл Иосифович, доктор медицинских наук, профессор, в.н.с. отделения гинекологического, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24, e-mail: kiazoz2@yandex.ru

Zhordania Kirill Iosifovich, Prof., Ph.D., gynecological department, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24, e-mail: kiazoz2@yandex.ru

Князев Ростислав Игоревич, кандидат медицинских наук, отделение гинекологическое, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24, e-mail: sluwba@mail.ru

Knyazev Rostislav Igorevich, gynecological department, Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Kashirskoye shosse, 24, e-mail: sluwba@mail.ru