

## Особенности системы матричных металлопротеиназ сыворотки крови у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи

Клишо Е.В.<sup>1</sup>, Кондакова И.В.<sup>1</sup>, Чойнзонов Е.Л.<sup>1,2</sup>, Черемисина О.В.<sup>1</sup>, Шишкин Д.А.<sup>1</sup>

## Matrix metalloproteinase system in blood serum in patients with squamous cell head and neck carcinomas

Klisho Ye.V., Kondakova I.V., Choynzonov Ye.L., Cheremisina O.V., Shishkin D.A.

<sup>1</sup> НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. и др.

Представлены результаты исследования содержания матричных металлопротеиназ (ММП) -2, -3, -9 и эндогенных тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ (ТИММП) -1, -2 в сыворотке крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи (ПКГШ). Проведено иммуноферментное исследование сыворотки крови 193 больных ПКГШ и 38 здоровых доноров. При анализе уровня маркеров в сыворотке крови в зависимости от локализации первичного опухолевого очага установлена некоторая органоспецифичность содержания ММП и тканевых ингибиторов, в частности снижение уровня ММП-3, ТИММП-1, -2 у больных опухолями слизистой оболочки полости рта по сравнению с больными раком гортани. Обнаружен более высокий уровень ТИММП-1 и ММП-9 в сыворотке крови больных ПКГШ по сравнению с уровнем этих показателей в крови здоровых лиц. Высокие значения ТИММП-1 и ММП-9 в сыворотке больных ПКГШ могут быть предметом пристального изучения для выявления прогностической значимости у пациентов с диагнозом ПКГШ.

**Ключевые слова:** плоскоклеточные карциномы головы и шеи, матричные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ.

The concentrations of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9) and their tissue inhibitors (TIMP-1, -2) were studied in blood serum of 193 patients with squamous cell head and neck carcinoma (SCHNC) and in 38 healthy donors using immunoenzymatic assay. The decreased MMP-3 and TIMP-1, -2 levels were found in patients with oral cavity tumors as compared to patients with laryngeal cancer. The serum MMP-9 and TIMP-1 levels were significantly higher in head and neck cancer patients than in healthy subjects. High TIMP-1 and MMP-9 levels in blood serum of patients with SCHNC should be greatly attended for detection of their predictive and prognostic significances.

**Key words:** squamous cell head and neck carcinoma, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases.

УДК 617.51/53-006.61:616.15

### Введение

Плоскоклеточные карциномы головы и шеи (ПКГШ) характеризуются долгим бессимптомным течением, поздним обращением в специализированные учреждения, ранним возникновением метастазов и высокой смертностью больных с данной патологией уже на первом году после постановки диагноза [5, 6, 8, 14]. Одной из причин неудач в лечении ПКГШ является неудовлетворительная оценка прогнозирования

течения заболевания и его исхода, основанного на использовании стандартных прогностических критериев, включающих клинические и морфологические характеристики опухолевого процесса, которые часто малоинформативны. Для решения практических задач индивидуального прогнозирования возникает потребность в дополнительных молекулярных прогностических маркерах. Среди большой группы потенциальных молекулярных прогностических факторов особое место занимает система матричных металлопротеи-

наз, так как известно, что ключевую роль в развитии опухолей играют протеолитические процессы, которые могут наделять опухолевые клетки способностью к инвазии и метастазированию [2, 3, 7]. Система матриксных металлопротеиназ объединяет матриксные металлопротеиназы (ММП) и их тканевые ингибиторы (ТИММП) [9, 13].

С учетом важной роли системы ММП в развитии злокачественных опухолей цель данной работы — сравнительное изучение содержания ММП и ПИММП в сыворотке крови больных ПКГШ в зависимости от анатомической локализации первичной опухоли.

## Материал и методы

В исследовании приняли участие 193 мужчины, больных ПКГШ T1-4N0-3M0 стадии, и 38 здоровых доноров. Стадии заболевания уточнялись по данным клинического и полного морфологического обследования в соответствии с международной классификацией TNM. Диагноз плоскоклеточных карцином гортани, глотки и слизистой оболочки дна полости рта был морфологически верифицирован у всех больных. Материалом для исследования служили образцы сыворотки крови пациентов с ПКГШ и здоровых доноров. Сыворотку забирали стандартным способом у больных ПКГШ после постановки диагноза до начала лечебных процедур и хранили при температуре  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  не более 10 мес, размораживая не более 1 раза для иммуноферментного определения содержания маркеров.

Уровень металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови определяли стандартным способом с использованием наборов для твердофазного иммуноферментного анализа Human Human MMP-2, -3, -9 Quantikine ELISA Kits; Human Human TIMP-1, -2 Quantikine ELISA Kits (R&D Systems, США). Для расчета концентраций маркеров в сыворотке крови использовали стандартный пакет программ иммуноферментного анализатора ANTHOS 2020 (Австрия).

Все результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее выборочное,  $m$  — ошибка среднего. При статистической обработке полученных данных использовался пакет программ Statistica 6.0 for Windows для оценки значимости различий [1]. Результаты проверялись на нормальность распределения с

использованием критерия Колмогорова—Смирнова. При нормальном распределении значений применялся параметрический  $t$ -критерий Стьюдента. Для значений, закон распределения которых отличался от нормального, применялся непараметрический критерий Манна—Уитни. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В работе представлены результаты исследования содержания ММП-2, -3, -9 и ТИММП-1, -2 в сыворотке крови 193 больных ПКГШ и 38 здоровых доноров. Основная локализация процесса была представлена раком гортани (50,3%), который зарегистрирован у 97 пациентов. Рак слизистой оболочки полости рта наблюдался у 55 (28,5%) больных, а рак глотки у 41 (21,2%) больного ПКГШ. Локализации опухолевого процесса у больных, сыворотка которых была исследована в настоящей работе, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Анатомическая локализация плоскоклеточных карцином головы и шеи

Локализация ПКГШ	Абс.	%
Рак гортани	97	50,3
Рак гортаноглотки	32	16,5
Рак ротоглотки	9	4,7
Рак языка	27	14,0
Рак слизистой оболочки щеки	5	2,6
Рак дна полости рта	23	11,9
Всего	193	100

При анализе уровня маркеров в сыворотке крови в зависимости от локализации первичного опухолевого очага выявлена некоторая органоспецифичность продукции ММП-3 и тканевых ингибиторов. Так, содержание ММП-3, ТИММП-1 и -2 в сыворотке крови больных опухолями слизистой оболочки полости рта было ниже, чем уровень этих показателей в сыворотке крови больных раком гортани (рисунок). Уровень продукции ТИММП-2 в сыворотке больных раком ротоглотки и гортаноглотки был ниже, чем содержание этого ингибитора у больных раком гортани (рисунок). Зарегистрировано более высокое содержание ТИММП-1 в сыворотке крови больных опухолями, локализованными в области глотки, по сравнению с

уровнем содержания ингибитора в сыворотке крови у больных опухолями полости рта. Однако стоит отметить, что выявленные различия в уровне продукции исследуемых маркеров не превышают 15—20% от абсолютной величины уровня показателей в сыворотке крови сравниваемых групп. Зависимости содержания ММП-2 и -9 в сыворотке крови больных ПКГШ от анатомического расположения злокачественной опухоли не установлено.

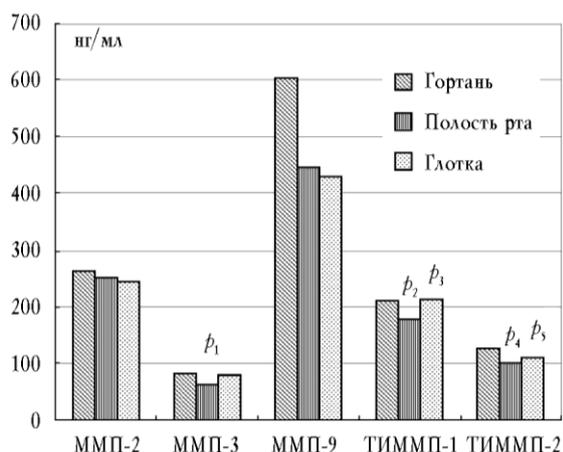


Рис. 1. Зависимость уровня ММП и ТИММП от локализации опухолевого процесса в сыворотке крови больных ПКГШ; значимость различий по сравнению с группой больных с диагнозом «рак гортани» ( $p_1 = 0,0494$ ;  $p_2 = 0,0354$ ;  $p_4 = 0,0006$ ;  $p_5 = 0,0139$ ); значимость различий по сравнению с группой больных с диагнозом «рак слизистой оболочки полости рта» ( $p_3 = 0,0497$ )

Анализируя связь содержания маркеров системы ММП с локализацией первичной злокачественной опухоли, можно предположить, что продукция ММП-3 и тканевых ингибиторов ММП в сыворотке крови больных ПКГШ имеет некоторую органоспецифичность, которая, возможно, связана как с анатомическими, так и функциональными особенностями расположения органов верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта.

До настоящего времени не проводилось исследований органной специфичности содержания ММП и ТИММП в сыворотке у больных ПКГШ. Большинство исследователей не разделяют группы ПКГШ по органной принадлежности первичной опухоли на том основании, что они имеют общее гистологическое сходство

как опухоли, произошедшие из многослойного плоского эпителия, и объединены в одну классификационную группу ПКГШ [11].

Считается, что опухоли, входящие в объединенную группу ПКГШ, имеют как сходное гистологическое строение, так и сходные модели клинического поведения [4, 5, 11], что, вероятно, позволяет пренебрегать небольшими различиями в экспрессии маркеров системы ММП. Учитывая эти обстоятельства, при дальнейшем рассмотрении материала использовалась объединенная группа ПКГШ.

В представленной работе был проведен также сравнительный анализ содержания компонентов системы ММП в сыворотке крови больных ПКГШ и здоровых лиц. Обнаружен более высокий уровень ТИММП-1 и ММП-9 в сыворотке крови больных ПКГШ по сравнению с уровнем этих показателей в крови здоровых лиц ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Полученные результаты по определению содержания ММП-9 в сыворотке крови согласуются с данными других авторов, описывающих высокие серологические концентрации ММП-9 у пациентов с ПКГШ по сравнению со значениями этого фермента у здоровых людей [10, 12]. Также собственные данные не противоречат результатам исследований, не выявившим различий серологических уровней ММП-2 у больных ПКГШ и здоровых людей [12]. Сравнительных исследований серологических уровней ТИММП-1 у онкологических больных и здоровых лиц в литературе не представлено. Однако стоит отметить, что в ряде работ показано «парадоксальное» увеличение экспрессии и продукции ТИММП при разных моделях опухолевого роста [9].

Увеличение содержания ТИММП выступает, вероятно, ответной системной реакцией организма на увеличение продукции ММП, направленной на предотвращение системного протеолиза [9].

Таблица 2

Содержание исследуемых матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови здоровых лиц и больных ПКГШ ( $M \pm m$ )

Группа	ММП-2		ММП-3		ММП-9		ТИММП-1		ТИММП-2	
	n	нг/мл	n	нг/мл	n	нг/мл	n	нг/мл	n	нг/мл
Здоровые лица	19	239,4 ± 14,0	19	82,2 ± 4,5	22	358,3 ± 42,3	38	147,2 ± 9,9	19	105,6 ± 6,2
Больные ПКГШ	69	255,9 ± 6,2	63	78,0 ± 4,0	120	530,0 ± 37,2	193	206,9 ± 6,6	69	115,5 ± 2,9
<i>p</i>		0,236		0,311		0,047		0,015		0,108

Примечание. *p* — значимость различий между группами.

## Заключение

Таким образом, представленные в данной работе результаты свидетельствуют о важной роли компонентов системы ММП в развитии ПКГШ. Выявленные отличия в содержании некоторых компонентов изучаемой системы в зависимости от локализации первичного опухолевого очага, вероятно, не имеют существенного значения для комплексного изучения ММП и ТИММП при ПКГШ. Анализируя полученные данные, можно заключить, что высокие значения ТИММП-1 и ММП-9 в сыворотке крови больных ПКГШ могут быть предметом пристального изучения для определения их прогностической значимости у пациентов с диагнозом ПКГШ.

## Литература

1. Боровиков В.П. Программа Statistica для студентов и инженеров: 2-е изд. М.: Компьютер Пресс, 2001. 301 с.
2. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Матриксные металлопротеиназы в онкогенезе // Сиб. онколог. журн. 2003. № 2. С. 62—71.
3. Кондакова И.В., Клишо Е.В., Савенкова О.В. и др. Матриксные металлопротеиназы 2 и 9 и их тканевые ингибиторы как факторы метастазирования злокачественных новообразований головы и шеи // Биомед. химия. 2008. Т. 54, № 5. С. 555—560.
4. Любаев В.Л., Айдарбекова А.А. Эффективность хирургических вмешательств при лечении регионарных метастазов у больных раком слизистой оболочки полости рта и ротоглотки // Сиб. онколог. журн. 2006. № 2. С. 11—15.
5. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. М.: Медицина, 2000. 479 с.
6. Реабилитация больных опухолями головы и шеи / Е.Л. Чойнзонов, Л.Н. Балацкая, З.Д. Кицманюк и др. Томск: Изд-во НТЛ, 2003. 296 с.
7. Christofor G. New signals from the invasive front // Nature. 2006. V. 44. P. 444—450.
8. Grandis J.R., Pietenpol J.A., Greenberger J.S. et al. Head and neck cancer: meeting summary and research opportunities // Cancer Res. 2004. V. 64, № 81. P. 26—29.
9. Jiang Y., Goldberg I.D., Shi Y.E. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer // Oncogen. 2002. V. 21. P. 2245—2252.
10. Ranuncolo S.M., Matos E., Loria D. et al. Circulating 92-kilodalton matrix metalloproteinase (MMP-9) activity is enhanced in the euglobulin plasma fraction of head and neck squamous cell carcinoma // Cancer. 2002. V. 94, № 5. P. 1483—1491.
11. Ridge J.A., Glisson B.S., Lango M.N. et al. Head and Neck Tumors. Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. 11 ed. 2008. 35 p.
12. Riedel F., Gotte K., Schwab J., Hormann K. Serum levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in patients with head and neck squamous cell carcinoma // Anticancer Res. 2000. V. 20, № 5A. P. 3045—3049.
13. Ruokolainen H., Pääkkö P., Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinase-9 in head and neck squamous cell carcinoma is a prognostic marker // Int. J. Cancer. 2005. V. 116, № 3. P. 422—427.
14. Stewart B.W., Kleihues P. World Cancer Report. Geneva: International Agency for Research on Cancer, 2003. P. 232—236.

Поступила в редакцию 18.11.2010 г.

Утверждена к печати 22.12.2010 г.

## Сведения об авторах

**Е.В. Клишо** — канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск).

**И.В. Кондакова** — д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории биохимии опухолей НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск).

**Е.Л. Чойнзонов** — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. отделением опухолей головы и шеи, директор НИИ онкологии СО РАМН, зав. кафедрой онкологии СибГМУ (г. Томск).

**О.В. Черемисина** — д-р мед. наук, ведущий науч. сотрудник отделения эндоскопии НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск).

**Д.А. Шишкин** — канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник отделения опухолей головы и шеи НИИ онкологии СО РАМН (г. Томск).

## Для корреспонденции

**Клишо Елена Владимировна**, тел. (3822) 51-25-29; e-mail: biochem@oncology.tomsk.ru