



# Матриксные металлопротеиназы-2, 7, 8, 9 и их тканевой ингибитор 1-го типа в сыворотке крови больных раком почки: клиничко-морфологические корреляции

Герштейн Е.С.<sup>1</sup> • Муштенко В.В.<sup>1</sup> • Короткова Е.А.<sup>1</sup> • Бежанова С.Д.<sup>1</sup> • Морозов А.А.<sup>2</sup> • Алферов А.А.<sup>1</sup> • Казанцева И.А.<sup>2</sup> • Кушлинский Н.Е.<sup>1</sup>

**Герштейн Елена Сергеевна** – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр., лаборатория клинической биохимии<sup>1</sup>  
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 324 11 59.  
E-mail: esgershtein@gmail.com

**Муштенко Владимир Владимирович** – врач-уролог, соискатель лаборатории клинической биохимии<sup>1</sup>

**Короткова Екатерина Андреевна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаборатория клинической биохимии<sup>1</sup>

**Бежанова Светлана Дмитриевна** – аспирант отдела патологической анатомии опухолей человека<sup>1</sup>

**Морозов Алексей Андреевич** – врач-уролог, отделение урологии<sup>2</sup>

**Алферов Александр Андреевич** – аспирант лаборатории клинической биохимии<sup>1</sup>

**Казанцева Ирина Александровна** – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр., патологоанатомическое отделение<sup>2</sup>

**Кушлинский Николай Евгеньевич** – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии<sup>1</sup>

**Актуальность.** Причиной поздней диагностики рака почки считается долгое практически бессимптомное течение заболевания. Успехи в его лечении, достигнутые в последние годы, обусловлены использованием антиангиогенных препаратов. Тем не менее многие вопросы диагностики, прогноза и предсказания эффективности таргетной терапии до сих пор не решены. Таким образом, изучение и поиск новых молекулярных маркеров рака почки, в первую очередь показателей, связанных с ангиогенной и инвазивной активностью, по-прежнему актуальны. К таким маркерам относятся матриксные металлопротеиназы (ММП), разрушающие большинство компонентов внеклеточного матрикса и вовлеченные во все этапы опухолевого процесса. **Цель** – сравнительная оценка содержания ММП-2, 7, 8, 9 и их тканевого ингибитора 1-го типа (ТИМП-1) в сыворотке крови практически здоровых людей, больных раком и доброкачественными опухолями почки, анализ их взаимосвязи с основными клиничко-морфологическими особенностями новообразований. **Материал и методы.** Обследованы 99 больных раком почки (94 первичных и 5 – на фоне прогрессирования) и 10 больных доброкачественными опухолями почки. В контрольную группу вошли 97 человек. Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа (Quantikine®, R&D Systems, США). **Результаты.** Содержание ММП-7, ММП-8 и ТИМП-1 в сыворотке крови больных раком почки статистически значимо выше, чем в контроле и у больных доброкачественными опухолями. Содержание ММП-2 и ММП-9 достоверно не различалось между

обследованными группами. При пороговом уровне ММП-7, равном 3,0 нг/мл, диагностическая чувствительность выявления первичного рака почки составила 84%, специфичность по отношению к «здоровому» контролю – 87,5%, к «патологическому» контролю (здоровые доноры + больные доброкачественными опухолями почки) – 73%. Наилучшее соотношение чувствительности и специфичности для ТИМП-1 составило 67 и 65% при пороговом уровне 315 нг/мл. Для ММП-8 не удалось найти порогового уровня с приемлемым соотношением чувствительности и специфичности. Уровни всех трех маркеров положительно коррелировали со стадией заболевания и показателями системы TNM, а уровни ММП-7 и ТИМП-1 возрастали по мере уменьшения степени дифференцировки опухоли. У 5 пациентов, обследованных на фоне прогрессирования, уровни всех маркеров были существенно выше, чем у первичных больных, и превышали рассчитанные пороговые значения. **Заключение.** Наиболее перспективным серологическим маркером рака почки следует считать ММП-7: ее содержание в сыворотке крови уже на I стадии заболевания превышает пороговый уровень в 84% случаев. ТИМП-1 обладает приемлемой чувствительностью (70% и более) только начиная со II стадии рака почки. Уровень ММП-8 увеличивается лишь при III–IV стадиях заболевания.

**Ключевые слова:** рак почки, матриксные металлопротеиназы 2, 7, 8, 9, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа, сыворотка крови, диагностические характеристики

doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-94-101

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

<sup>2</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



**Р**ак почки занимает третье место среди опухолей мочеполовой системы и составляет около 3% всех злокачественных новообразований взрослого населения во всем мире. Долгое практически бессимптомное течение заболевания становится причиной его поздней диагностики: приблизительно 40% пациентов на момент постановки диагноза имеют либо большую первичную опухоль, либо отдаленные метастазы. Более того, после хирургического лечения локализованного почечно-клеточного рака у 30% пациентов развиваются метастазы. Возможности терапевтического лечения опухолей почки до недавнего времени были ограничены их низкой чувствительностью к стандартной химио- и лучевой терапии. Достигнутый недавно прогресс в лечении рака почки, в первую очередь его наиболее распространенного светлоклеточного варианта, обусловлен использованием антиангиогенных препаратов, ингибирующих активность рецепторов VEGF и некоторых других факторов роста, вовлеченных в процесс ангиогенеза [1, 2]. Теоретической предпосылкой для применения этих препаратов у больных светлоклеточным раком почки стал тот факт, что важное место в этиологии данного заболевания занимает инактивирующая мутация в гене опухоль-супрессорного белка VHL, тесно связанного с гипоксическим фактором HIF-1 $\alpha$  и индукцией ангиогенеза [3].

Следует отметить: несмотря на значительные успехи антиангиогенной терапии рака почки, многие вопросы диагностики, прогноза и предсказания эффективности таргетной терапии до сих пор не решены [4]. Таким образом, изучение и поиск новых молекулярных маркеров рака почки, прежде всего показателей, сопряженных с ангиогенной и инвазивной активностью, по-прежнему актуальны.

Важное место среди потенциальных биологических маркеров различных опухолей занимают матриксные металлопротеиназы (ММП) – мультигенное семейство, состоящее из более 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинкзависимых эндопептидаз, участвующих в деградации практически всех компонентов внеклеточного матрикса [5]. К важнейшим представителям ММП относят различные коллагеназы (ММП-1, ММП-8 и др.), желатиназы А и В (ММП-2 и ММП-9 соответственно), матрилизин (ММП-7), стромелизины (ММП-3 и ММП-10). Активность ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется четырьмя тканевыми ингибиторами (ТИМП). Помимо большинства

компонентов внеклеточного матрикса субстратами ММП могут быть также другие протеазы, хемотаксические молекулы, латентные формы факторов роста, растворимые и мембранно-ассоциированные белки, связывающие факторы роста.

Установлено, что ММП вовлечены во все этапы опухолевого процесса, но особенно велика их роль в регуляции инвазии и метастазирования. Вместе с тем различные ММП и ТИМП играют важную роль в регуляции опухолевого ангиогенеза как посредством комплексного взаимодействия с VEGF и его рецепторами, так и независимо от этой ключевой проангиогенной системы [6]. Было показано увеличение экспрессии ММП в опухолях различного генеза, при этом ее активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы. Значимые изменения тканевой экспрессии некоторых ММП обнаружены и при раке почки [7–11], тогда как публикаций о роли циркулирующих в периферической крови ММП и ТИМП при раке почки немного [12–15], но представленные в них результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения данных маркеров. Известно также, что уровни циркулирующих ММП, в первую очередь ММП-2, тесно связаны с развитием и прогнозом многих неопухолевых патологий почки [16–18], влияют на эффективность таких важных лечебных процедур, как гемодиализ [19, 20].

Цель данного исследования – сравнительная оценка содержания ММП-2, 7, 8, 9 и ТИМП-1 в сыворотке крови практически здоровых людей, больных раком и доброкачественными опухолями почки, анализ их взаимосвязи с основными клинико-морфологическими особенностями новообразований.

## Материал и методы

Обследованы 99 больных раком почки (58 мужчин и 41 женщина в возрасте от 29 до 81 года, медиана – 59 лет) и 10 больных доброкачественными опухолями почки (3 мужчин и 7 женщин в возрасте от 42 до 84 лет, медиана – 60 лет). Девяносто четыре больных раком почки обследованы при первичном поступлении и 5 – на фоне прогрессирования заболевания. Диагноз рака почки подтвержден результатами планового гистологического исследования и последующего пересмотра препаратов. В контрольную группу вошли 37 практически здоровых мужчин и 60 женщин



в возрасте от 18 до 77 лет, медиана – 40 лет. Исследование было проведено согласно требованиям комиссии по этике ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови, полученной по стандартной методике с использованием пробирок с активатором свертывания до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа Total MMP-2 Immunoassay, Human MMP-7 Immunoassay, Human MMP-8 Immunoassay, Human MMP-9 Immunoassay, Human TIMP-1 Immunoassay (Quantikine®, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . Во всех таблицах представлены показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей.

Для выявления пороговых уровней маркеров, соответствующих оптимальным диагностическим характеристикам, использовали построенные кривые ROC (receiver operating characteristic), которые представляют собой график зависимости количества (доли) истинно положительных образцов (чувствительность) от количества ложноположительных образцов (величина, равная  $1 - \text{специфичность}$ ), наблюдаемых

при различных пороговых уровнях исследуемого маркера. Построение ROC-кривых проводили с помощью программного пакета SPSS.

## Результаты и обсуждение

Содержание ММП-7 и ТИМП-1 в сыворотке крови было статистически значимо повышено по сравнению с контролем как у первичных больных раком почки, так и у пациентов, обследованных на фоне прогрессирования, а также у больных доброкачественными новообразованиями почки. Содержание ММП-8 в сыворотке крови больных первичным раком почки было статистически значимо выше, чем в контрольной группе и у больных доброкачественными опухолями. Содержание ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови статистически значимо не различалось между обследованными группами, хотя уровень обеих желатиназ у больных первичным раком почки был несколько ниже, чем в контроле (табл. 1).

Можно отметить, что уровни всех исследованных маркеров в сыворотке крови больных раком почки на фоне прогрессирования процесса были выше, чем у больных с впервые выявленным почечноклеточным раком, но ввиду малочисленности данной группы (5 человек) эти различия не достигли уровня статистической значимости. Особенно заметное увеличение сывороточной концентрации ММП-7 зарегистрировано на фоне прогрессирования рака почки.

Следовательно, основываясь на полученных результатах, в качестве потенциально значимых серологических маркеров рака почки можно рассматривать три показателя: ММП-7, ТИМП-1 и ММП-8 – их уровни достоверно увеличиваются при данном заболевании.

**Таблица 1.** Содержание (нг/мл) матриксных металлопротеиназ 2, 7, 8, 9 и их тканевого ингибитора 1-го типа в сыворотке крови больных опухолями почки и группы контроля

Обследованные группы	n	ММП-2	ММП-7	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
Больные первичным раком почки (группа 1)	94	402 334–602	6,3 3,6–10,0	51,4 33,2–70,4	876 704–1090	351 300–432
Больные раком почки на фоне прогрессирования (группа 2)	5	417 336–504	14,2 5,65–16,7	61,6 60,7–84,0	1010 847–1022	445 392–522
Больные доброкачественными опухолями почки (группа 3)	10	475 303–595	4,5 3,2–6,2	31,8 21,9–70,1	917 791–1116	338 294–386
Контроль (К)	97	453 348–545	2,21 1,71–2,66	35,9 24,9–63,0	967 756–1271	296 232–386
<i>p</i>			$p_{1-к} < 0,0001$ $p_{2-к} p_{3-к} < 0,001$	$p_{1-к} p_{1-3} < 0,05$		$p_{1-к} < 0,0001$ $p_{2-к} < 0,001$ $p_{3-к} p_{2-3} < 0,05$

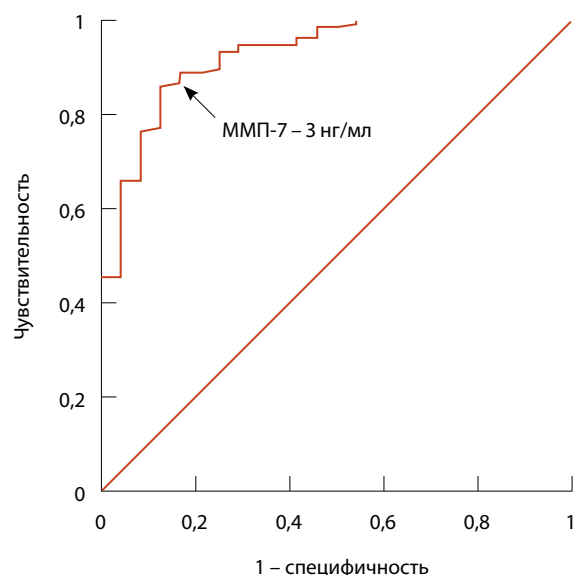
ММП – матриксная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей



При пороговом уровне ММП-7, равном верхнему 90% перцентилю нормы (4,5 нг/мл) и соответствующем 90% специфичности, чувствительность выявления первичного рака почки составляет 66% (уровень превышен у 62 из 94 пациентов). У всех 5 пациентов, обследованных при прогрессировании, содержание ММП-7 в сыворотке крови было выше 4,5 нг/мл. Данный пороговый уровень был превышен и у 5 из 10 (50%) больных доброкачественными новообразованиями почки. Таким образом, очевидно, что специфичность теста при пороговом уровне 4,5 нг/мл по отношению к «патологическому» контролю недостаточна, довольно низкой при этом пороговом значении оказывается и чувствительность выявления первичного рака почки. Однако построение кривой ROC (рисунок) позволило оптимизировать диагностические характеристики ММП-7: при пороговом уровне 3,0 нг/мл диагностическая чувствительность выявления первичного рака почки составила 84%, специфичность по отношению к «здоровому» контролю – 87,5%, по отношению к «патологическому» контролю (здоровые доноры + больные доброкачественными заболеваниями почки) – 73%. Диагностические характеристики ММП-7, полученные в настоящем исследовании, совпадают с опубликованными недавно данными С. Niedworok и соавт. [15]: этот тест при пограничном уровне в плазме крови, равном 3,15 нг/мл, имеет 70% специфичность и 82% чувствительность. Эти авторы показали также, что при высоких уровнях ММП-7 происходит снижение общей и безрецидивной выживаемости пациентов. Аналогичные результаты были получены ранее А. Ramankulov и соавт. [14], исследовавшими содержание ММП-7 в плазме крови 97 больных раком почки. По их данным, оптимальный пороговый уровень ММП-7 в плазме крови составляет 2,47 нг/мл, при этом чувствительность и специфичность теста равны соответственно 76 и 72%.

Уровень 90% перцентиля нормы для ТИМП-1 составил 389 нг/мл и был превышен всего у 35 первичных больных раком (чувствительность – 37%), у 4 из 5 (80%) пациентов, обследованных при прогрессировании, и у 1 из 10 (10%) больных доброкачественными заболеваниями почки. Существенно улучшить диагностические характеристики данного теста при построении кривых ROC не удалось: наилучшее соотношение чувствительности (67%) и специфичности (65%) отмечено при пороговом уровне маркера 315 нг/мл. При этом данный уровень ТИМП-1



ROC-кривая для оценки диагностических характеристик сывороточного уровня ММП-7 при сравнении группы больных раком почки и группы контроля

превышен у всех пациентов, обследованных на фоне прогрессирования, и у 30% больных доброкачественными новообразованиями почек.

Уровень 90% перцентиля нормы для ММП-8, составивший 110 нг/мл, был превышен только у 8 первичных больных раком почки. Построение кривой ROC не выявило порогового уровня данной протеазы, обеспечивающего приемлемое соотношение чувствительности и специфичности.

Далее оценили взаимосвязь уровней изучаемых маркеров в сыворотке крови с основными показателями распространенности рака почки (табл. 2). Обнаружено высокодостоверное повышение уровня ММП-7 ( $p < 0,001$ ) и ТИМП-1 ( $p < 0,0001$ ) по мере увеличения стадии опухолевого процесса. При этом уровень ММП-7 постепенно увеличивался от I к IV стадии, а уровень ТИМП-1 при III и IV стадиях был практически одинаковым. Уровень ММП-7 превышал выбранное пороговое значение 3,0 нг/мл у 84% больных в I стадии, у 90% больных – II, 87% больных – III и 80% больных – в IV стадии. Уровень ТИМП-1 превышал 315 нг/мл у 55% больных в I стадии, 70% – II, 93% – III и 83% пациентов в IV стадии рака почки. Значимое увеличение уровня ММП-8 отмечено только при III и IV стадиях рака почки.

Выявлено также значительное и достоверное увеличение сывороточных концентраций ММП-7, ТИМП-1 и ММП-8 по мере увеличения индекса T, отражающего размер первичной



опухоли, и индекса N (степень вовлечения регионарных лимфатических узлов), а также достоверно более высокие уровни этих маркеров у больных с отдаленными метастазами по сравнению с пациентами без метастазов. При анализе взаимосвязи с размером опухоли (T) оказалось, что наиболее высокие уровни вышеуказанных маркеров наблюдали при T<sub>3</sub> (опухоль распространяется на главные вены или вторгается в надпочечник или окружающую ткань, но не прорастает почечную фасцию), а при T<sub>4</sub> происходит незначительное снижение уровня маркеров относительно T<sub>3</sub>. В то же время уровни маркеров максимальны при наибольшем вовлечении в опухолевый процесс лимфатических узлов – N<sub>2</sub>.

По гистологическому строению большинство злокачественных опухолей почки представляли собой светлоклеточный (80%), 7,5% – хромофобный, 8,5% – папиллярный (5 первого и 3 второго типа) и 3% – уротелиальный рак. Несмотря на небольшое число наблюдений в обследованных подгруппах пациентов, выявлено статистически значимое увеличение сывороточной концентрации ММП-7 при папиллярном раке по сравнению со всеми другими типами рака почки (табл. 3).

Нами также продемонстрировано увеличение сывороточных концентраций ТИМП-1 и ММП-7 с уменьшением степени дифференцировки рака почки (от G1 к G4). При этом содержание ММП-2 в сыворотке крови больных низкодифференцированным раком (G4) оказалось наиболее низким.

Таким образом, удалось выявить три показателя, уровень которых значимо увеличивается в сыворотке крови больных раком почки, однако их диагностические характеристики весьма различаются. Наиболее перспективным серологическим маркером следует считать ММП-7: содержание этой протеазы в сыворотке возрастает уже на I стадии заболевания и превышает пороговый уровень, соответствующий 87,5% специфичности относительно «здорового» и 73% специфичности относительно «патологического» контроля, у 84% больных этой подгруппы. ТИМП-1 обладает приемлемой чувствительностью (70% и более) только начиная со II стадии рака почки, специфичность при этом как относительно «здорового», так и относительно «патологического» контроля составляет всего 65%. Уровень третьего маркера – ММП-8 – увеличивается лишь при III–IV стадиях заболевания, что делает его менее информативным.

Закономерно, что уровни всех трех маркеров положительно коррелировали с основными

**Таблица 2.** Содержание (нг/мл) матричных металлопротеиназ 2, 7, 8, 9 и их тканевого ингибитора 1-го типа в сыворотке крови больных раком почки в зависимости от показателей распространенности опухоли

Показатель распространенности	n	ММП-2	ММП-7	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
<b>Стадия</b>						
I	53	415 340–594	4,95 3,3–8,8	43,6 26,6–64,4	861 662–1087	319 288–368
II	10	404 334–480	6,1 3,7–9,7	38,7 36,1–52,1	823 747–1174	360 281–423
III	15	401 335–628	9,7 5,4–22,6	64,7 53,8–86,1	973 704–1192	489 341–715
IV	16	334 258–619	14,2 8,6–19,3	69,3 43,2–85,0	868 763–1049	485 394–653
p (тест Краскела – Уоллиса)		> 0,1	< 0,001	< 0,01	> 0,1	< 0,0001
<b>Размер опухоли (T)</b>						
T <sub>1</sub>	49	400 327–594	5,0 3,3–9,2	43,2 24,1–64,4	820 624–1033	317 277–365
T <sub>2</sub>	17	374 325–480	7,5 4,4–9,7	52,1 38,3–72,6	921 791–1174	413 382–488
T <sub>3</sub>	25	374 321–619	12,7 6,1–19,4	65,9 38,8–86,1	875 704–1040	481 339–653
T <sub>4</sub>	3	571 449–695	7,4 4,2–11,1	52,0 44,7–64,0	1209 914–1430	369 299–382
p (тест Краскела – Уоллиса)		> 0,1	< 0,01	< 0,05	> 0,1	< 0,0001
<b>Метастазы в лимфатических узлах (N)</b>						
N <sub>0</sub>	78	392 331–578	5,9 3,3–9,6	45,8 30,9–67,7	863 699–1041	340 293–413
N <sub>1</sub>	8	434 380–648	4,8 3,6–7,5	37,1 26,8–54,2	902 605–1100	360 268–441
N <sub>2</sub>	8	384 305–519	15,4 8,8–27,4	83,5 42,8–135	1020 813–1415	561 401–704
p (тест Краскела – Уоллиса)		> 0,1	< 0,05	< 0,05	> 0,1	< 0,01
<b>Отдаленные метастазы (M)</b>						
M <sub>0</sub>	84	405 335–602	6,1 3,3–9,7	47,1 30,5–68,6	868 701–1090	341 295–419
M+	10	331 258–414	10,7 8,6–19,2	74,1 52,4–83,0	1039 791–1082	507 369–640
p (тест Краскела – Уоллиса)		> 0,1	< 0,05	< 0,05	> 0,1	< 0,01

ММП – матричная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей





**Таблица 3.** Содержание (нг/мл) матриксных металлопротеиназ 2, 7, 8, 9 и их тканевого ингибитора 1-го типа в сыворотке крови больных раком почки в зависимости от гистологического строения и степени дифференцировки опухоли

Критерий	n	ММП-2	ММП-7	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
<b>Гистологическое строение</b>						
светлоклеточный рак (Св)	74	400 325–594	6,3 3,6–10,0	51,4 34,0–72,6	874 679–1087	351 301–488
хромофобный рак (Хр)	7	371 322–418	3,7 2,6–4,9	38,3 30,2–70,4	1000 791–1197	345 305–423
папиллярный рак (Пап)	8	472 349–654	10,5 9,4–32,8	65,5 46,4–103,4	1006 790–1163	416 341–715
уротелиальный рак (Ур)	3	794 700–860	2,9 2,6–3,9	12,5 12,3–68,6	701 624–1007	279 385–450
p (тест Манна – Уитни)		Все > 0,1	Пап–Св, Пап–Хр < 0,01 Пап–Ур < 0,05	Все > 0,1	Все > 0,1	Пап–Ур < 0,05
<b>Степень дифференцировки</b>						
G1	7	358 263–609	5,8 5,0–9,4	44,9 17,8–91,2	766 742–1123	304 273–518
G2	49	416 340–602	6,1 3,4–9,6	57,1 31,4–65,6	868 644–978	335 298–398
G3	12	415 365–695	8,6 5,7–15,9	65,5 47,4–79,0	1044 846–1269	369 321–478
G4	9	319 297–364	19,4 16,0–23,6	64,7 43,6–101	875 662–1257	653 526–715
p (тест Краскела – Уоллиса)		> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	< 0,05
p (тест Манна – Уитни)		p <sub>III–IV</sub> < 0,05 p <sub>II–IV</sub> < 0,01	p <sub>II–IV</sub> < 0,01	Все > 0,1	Все > 0,1	p <sub>II–IV</sub> < 0,01 p <sub>II–IV</sub> < 0,0001

ММП – матриксная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей

показателями системы TNM, характеризующими размер и степень инвазии первичной опухоли (T), метастатическое поражение лимфатических узлов (N) и отдаленных органов (M). Уровни ММП-7 и ТИМП-1 в сыворотке крови возрастали также по мере уменьшения дифференцировки опухоли, а наиболее высокие уровни ММП-7 отмечены при папиллярном раке почки. Представляется важным отметить: в небольшой группе пациентов, первично обследованных уже на фоне прогрессирования заболевания, уровни всех трех вышеуказанных маркеров были существенно выше, чем у первичных больных, и превышали рассчитанные пороговые значения. Следовательно, выявленные маркеры могут быть

полезны и для послеоперационного мониторинга больных раком почки.

К сожалению, нельзя не учитывать, что уровни ММП-7 и ТИМП-1 в периферической крови повышаются не только при раке почки, но и при некоторых других злокачественных новообразованиях. В частности, в наших исследованиях оба маркера оказались диагностическими и прогностическими факторами при раке толстой кишки, а уровень ММП-7 был также значимо увеличен и коррелировал с основными показателями распространенности опухолевого процесса при раке яичников и раке желудка [5]. Кроме того, содержание ММП-7 в сыворотке крови увеличивается при некоторых неопухолевых патологиях почек, таких как диабетическая нефропатия [16].

С фундаментальной точки зрения полученные результаты стали дополнительным подтверждением того, что увеличение экспрессии ММП-7, которая помимо разрушения компонентов внеклеточного матрикса участвует в процессинге некоторых биологически важных молекул клеточной поверхности и в отличие от других ММП синтезируется преимущественно опухолевыми клетками, является универсальным изменением в системе ММП-зависимого протеолиза, характерным для опухолей различного гистогенеза.

## Заключение

При исследовании содержания нескольких ММП и ТИМП-1 в сыворотке крови больных опухолями почки и здоровых доноров удалось выявить три показателя, уровень которых значимо увеличивается при раке почки, однако их диагностические характеристики различны. Наиболее перспективным серологическим маркером рака почки следует считать ММП-7, ее уровень уже на I стадии заболевания превышает пороговое значение (3,0 нг/мл) в 84% случаев. ТИМП-1 обладает приемлемой чувствительностью (70% и более) только начиная со II стадии рака почки. Уровень ММП-8 увеличивается лишь при III–IV стадиях заболевания. Необходимо отметить: уровни ММП-7 и ТИМП-1 в периферической крови повышаются не только при раке почки, но и при некоторых других злокачественных новообразованиях. С одной стороны, это указывает на универсальный характер данных изменений, с другой – снижает их значение в дифференциальной диагностике рака почки. Тем не менее мы полагаем, что данные маркеры заслуживают дальнейшего изучения в качестве компонентов комплексного обследования и мониторинга больных почечноклеточным раком. ☺



## Литература

1. Ainsworth NL, Lee JS, Eisen T. Impact of anti-angiogenic treatments on metastatic renal cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009;9(12):1793–805. doi: 10.1586/era.09.144.
2. Srinivasan R, Armstrong AJ, Dahut W, George DJ. Anti-angiogenic therapy in renal cell cancer. *BJU Int.* 2007;99(5 Pt B):1296–300. doi: 10.1111/j.1464-410X.2007.06834.x.
3. Oya M. Renal cell carcinoma: biological features and rationale for molecular-targeted therapy. *Keio J Med.* 2009;58(1):1–11. doi: http://doi.org/10.2302/kjm.58.1.
4. Virman JP, Bono P, Luukkaala TH, Sunela KL, Kujala PM, Kellokumpu-Lehtinen PL. Combined Angiogenesis and Proliferation Markers' Expressions as Long-Term Prognostic Factors in Renal Cell Cancer. *Clin Genitourin Cancer.* 2016;14(4):e283–9. doi: 10.1016/j.clgc.2015.12.014.
5. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2013;68(5):16–27.
6. Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.017.
7. Abdel-Wahed MM, Asaad NY, Aleskandary M. Expression of matrix metalloproteinase-2 in renal cell carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2004;16(3):168–77.
8. Cheng HP, Duan YR, Li Y, Li XD, Zhu CY, Chen BP. Clinicopathological significance of matrix metalloproteinase-2 protein expression in renal cell carcinoma patients. *Anal Quant Cytopathol Histopathol.* 2015;37(6):353–63.
9. Cho NH, Shim HS, Rha SY, Kang SH, Hong SH, Choi YD, Hong SJ, Cho SH. Increased expression of matrix metalloproteinase 9 correlates with poor prognostic variables in renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2003;44(5):560–6. doi: http://doi.org/10.1016/S0302-2838(03)00362-2.
10. Lu H, Yang Z, Zhang H, Gan M, Zhou T, Wang S. The expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 7 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2 in clear cell renal cell carcinoma. *Exp Ther Med.* 2013;5(3):890–6. doi: 10.3892/etm.2012.859.
11. Qiao ZK, Li YL, Lu HT, Wang KL, Xu WH. Expression of tissue levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in renal cell carcinoma. *World J Surg Oncol.* 2013;11:1. doi: 10.1186/1477-7819-11-1.
12. Di Carlo A. Matrix metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 in sera and urine of patients with renal carcinoma. *Oncol Lett.* 2014;7(3):621–6. doi: 10.3892/ol.2013.1755.
13. Lein M, Jung K, Laube C, Hübner T, Winkelmann B, Stephan C, Hauptmann S, Rudolph B, Schnorr D, Loening SA. Matrix-metalloproteinases and their inhibitors in plasma and tumor tissue of patients with renal cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2000;85(6):801–4. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(20000315)85:6<801::AID-IJC11>3.0.CO;2-C.
14. Ramankulov A, Lein M, Johannsen M, Schrader M, Miller K, Jung K. Plasma matrix metalloproteinase-7 as a metastatic marker and survival predictor in patients with renal cell carcinomas. *Cancer Sci.* 2008;99(6):1188–94. doi: 10.1111/j.1349-7006.2008.00802.x.
15. Niedworok C, vom Dorp F, Tschirdewahn S, Rübber H, Reis H, Szucs M, Szarvas T. Validation of the diagnostic and prognostic relevance of serum MMP-7 levels in renal cell cancer by using a novel automated fluorescent immunoassay method. *Int Urol Nephrol.* 2016;48(3):355–61. doi: 10.1007/s11255-015-1185-8.
16. Ban CR, Twigg SM, Franjic B, Brooks BA, Celemajer D, Yue DK, McLennan SV. Serum MMP-7 is increased in diabetic renal disease and diabetic diastolic dysfunction. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(3):335–41. doi: 10.1016/j.diabres.2010.01.004.
17. Basu RK, Donaworth E, Siroky B, Devarajan P, Wong HR. Loss of matrix metalloproteinase-8 is associated with worsened recovery after ischemic kidney injury. *Ren Fail.* 2015;37(3):469–75. doi: 10.3109/0886022X.2014.996842.
18. Chang HR, Yang SF, Li ML, Lin CC, Hsieh YS, Lian JD. Relationships between circulating matrix metalloproteinase-2 and -9 and renal function in patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta.* 2006;366(1–2):243–8. doi: 10.1016/j.cca.2005.10.007.
19. Hsiao KC, Tsai JP, Yang SF, Lee WC, Huang JY, Chang SC, Hso CS, Chang HR. MMP-2 serum concentrations predict mortality in hemodialysis patients: a 5-year cohort study. *Clin Chim Acta.* 2016;452:161–6. doi: 10.1016/j.cca.2015.11.019.
20. Lu LC, Yang CW, Hsieh WY, Chuang WH, Lin YC, Lin CS. Decreases in plasma MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 ratios in uremic patients during hemodialysis. *Clin Exp Nephrol.* 2016;20(6):934–42. doi: 10.1007/s10157-015-1221-0.

## References

1. Ainsworth NL, Lee JS, Eisen T. Impact of anti-angiogenic treatments on metastatic renal cell carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009;9(12):1793–805. doi: 10.1586/era.09.144.
2. Srinivasan R, Armstrong AJ, Dahut W, George DJ. Anti-angiogenic therapy in renal cell cancer. *BJU Int.* 2007;99(5 Pt B):1296–300. doi: 10.1111/j.1464-410X.2007.06834.x.
3. Oya M. Renal cell carcinoma: biological features and rationale for molecular-targeted therapy. *Keio J Med.* 2009;58(1):1–11. doi: http://doi.org/10.2302/kjm.58.1.
4. Virman JP, Bono P, Luukkaala TH, Sunela KL, Kujala PM, Kellokumpu-Lehtinen PL. Combined Angiogenesis and Proliferation Markers' Expressions as Long-Term Prognostic Factors in Renal Cell Cancer. *Clin Genitourin Cancer.* 2016;14(4):e283–9. doi: 10.1016/j.clgc.2015.12.014.
5. Gershtein ES, Kushlinskii NE. Clinical prospects of tumor-associated proteases and their tissue inhibitors investigation in oncologic patients. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2013;68(5):16–27. doi: http://dx.doi.org/10.15690/vramn.v68i5.659.
6. Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.017.
7. Abdel-Wahed MM, Asaad NY, Aleskandary M. Expression of matrix metalloproteinase-2 in renal cell carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2004;16(3):168–77.
8. Cheng HP, Duan YR, Li Y, Li XD, Zhu CY, Chen BP. Clinicopathological significance of matrix metalloproteinase-2 protein expression in renal cell carcinoma patients. *Anal Quant Cytopathol Histopathol.* 2015;37(6):353–63.
9. Cho NH, Shim HS, Rha SY, Kang SH, Hong SH, Choi YD, Hong SJ, Cho SH. Increased expression of matrix metalloproteinase 9 correlates with poor prognostic variables in renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2003;44(5):560–6. doi: http://doi.org/10.1016/S0302-2838(03)00362-2.
10. Lu H, Yang Z, Zhang H, Gan M, Zhou T, Wang S. The expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 7 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2 in clear cell renal cell carcinoma. *Exp Ther Med.* 2013;5(3):890–6. doi: 10.3892/etm.2012.859.
11. Qiao ZK, Li YL, Lu HT, Wang KL, Xu WH. Expression of tissue levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in renal cell carcinoma. *World J Surg Oncol.* 2013;11:1. doi: 10.1186/1477-7819-11-1.
12. Di Carlo A. Matrix metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 in sera and urine of patients with renal carcinoma. *Oncol Lett.* 2014;7(3):621–6. doi: 10.3892/ol.2013.1755.



13. Lein M, Jung K, Laube C, Hübner T, Winkelmann B, Stephan C, Hauptmann S, Rudolph B, Schnorr D, Loening SA. Matrix-metalloproteinases and their inhibitors in plasma and tumor tissue of patients with renal cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2000;85(6):801–4. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(20000315)85:6<801::AID-IJC11>3.0.CO;2-C.
14. Ramankulov A, Lein M, Johannsen M, Schradler M, Miller K, Jung K. Plasma matrix metalloproteinase-7 as a metastatic marker and survival predictor in patients with renal cell carcinomas. *Cancer Sci*. 2008;99(6):1188–94. doi: 10.1111/j.1349-7006.2008.00802.x.
15. Niedworok C, vom Dorp F, Tschirdewahn S, Rübber H, Reis H, Szucs M, Szarvas T. Validation of the diagnostic and prognostic relevance of serum MMP-7 levels in renal cell cancer by using a novel automated fluorescent immunoassay method. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(3):355–61. doi: 10.1007/s11255-015-1185-8.
16. Ban CR, Twigg SM, Franjic B, Brooks BA, Celermajer D, Yue DK, McLennan SV. Serum MMP-7 is increased in diabetic renal disease and diabetic diastolic dysfunction. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;87(3):335–41. doi: 10.1016/j.diabres.2010.01.004.
17. Basu RK, Donaworth E, Siroky B, Devarajan P, Wong HR. Loss of matrix metalloproteinase-8 is associated with worsened recovery after ischemic kidney injury. *Ren Fail*. 2015;37(3):469–75. doi: 10.3109/0886022X.2014.996842.
18. Chang HR, Yang SF, Li ML, Lin CC, Hsieh YS, Lian JD. Relationships between circulating matrix metalloproteinase-2 and -9 and renal function in patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1–2):243–8. doi: 10.1016/j.cca.2005.10.007.
19. Hsiao KC, Tsai JP, Yang SF, Lee WC, Huang JY, Chang SC, Hso CS, Chang HR. MMP-2 serum concentrations predict mortality in hemodialysis patients: a 5-year cohort study. *Clin Chim Acta*. 2016;452:161–6. doi: 10.1016/j.cca.2015.11.019.
20. Lu LC, Yang CW, Hsieh WY, Chuang WH, Lin YC, Lin CS. Decreases in plasma MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 ratios in uremic patients during hemodialysis. *Clin Exp Nephrol*. 2016;20(6):934–42. doi: 10.1007/s10157-015-1221-0.

## Matrix metalloproteinases 2, 7, 8, 9 and their type 1 tissue inhibitor in serum of renal cancer patients: clinical and pathologic correlations

Gershtein E.S.<sup>1</sup> • Mushtenko V.V.<sup>1</sup> • Korotkova E.A.<sup>1</sup> •  
 Bezhanova S.D.<sup>1</sup> • Morozov A.A.<sup>2</sup> • Alferov A.A.<sup>1</sup> •  
 Kazantseva I.A.<sup>2</sup> • Kushlinskii N.E.<sup>1</sup>

**Background:** The cause of late diagnosis of renal cancer lies in its durable, almost asymptomatic course. Due to the use of antiangiogenic therapies much progress has been made in its treatment in recent years. Yet, many questions concerning the diagnosis, prognosis and prediction of the efficiency of targeted therapy remain unsolved. Therefore, exploration of new renal cancer molecular markers, especially those related to its angiogenic and invasive activities, are still on the agenda. Such markers include the family of matrix metalloproteinases (MMPs) that degrade the majority of extracellular matrix components and are involved at all stages of tumor progression. **Aim:** Comparative evaluation of MMP2, 7, 8, 9 and type 1 tissue inhibitor (TIMP-1) levels in serum of healthy individuals and patients with renal cancer or benign renal tumors, analysis of their associations with the main clinical and pathologic characteristics of the disease. **Materials and methods:** We examined 99 renal cancer patients (of those 94 with primary tumor and 5 at progression) and 10 patients with benign renal tumors. The control group included 97 healthy individuals. Levels of the proteins studied were measured using respective direct ELISA kits (Quantikine®, R&D Systems, USA). **Results:** MMP-7, MMP-8 and TIMP-1 levels in the sera of renal cancer patients were significantly higher than in the control group and in benign renal tumor patients. MMP-2 and

MMP-9 levels did not differ significantly between the study and control groups. At MMP-7 cut-off level of 3.0 ng/mL, its diagnostic sensitivity for primary renal cancer was 84%, specificity in relation to “healthy” control – 87.5%, in relation to the pathologic control (healthy donors + benign renal tumor patients) – 73%. The best sensitivity: specificity ratio for TIMP-1 was 67 and 65% at the cut-off level of 315 ng/ml. No cut-off value with acceptable sensitivity: specificity ratio was found for MMP-8. Serum levels of all these 3 markers were positively associated with disease stage and TNM indices; MMP-7 and TIMP-1 levels also increased with lower differentiation grade. In 5 patients evaluated at disease progression the levels of all the markers studied were markedly higher than in the primary patients, and exceeded the estimated cut-off values. **Conclusion:** MMP-7 should be regarded as the most promising serological renal cancer marker; its serum levels exceed the cut-off value even in 84% stage I patients. TIMP-1 has acceptable sensitivity (70% and above) only from stage II renal cancer onwards, while MMP-8 levels are increased only at stage III–IV of the disease.

**Key words:** renal cancer, matrix metalloproteinases 2, 7, 8, 9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1, serum, diagnostic characteristics

doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-94-101

**Gershtein Elena S.** – Doctor of Biol. Sci., Professor, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59. E-mail: esgershtein@gmail.com

**Mushtenko Vladimir V.** – MD, Urologist, Applicant of Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

**Korotkova Ekaterina A.** – PhD (in Biology), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

**Bezhanova Svetlana D.** – Postgraduate Student, Department of the Pathologic Anatomy of Human Tumors<sup>1</sup>

**Morozov Aleksey A.** – MD, Urologist, Department of Urology<sup>2</sup>

**Alferov Aleksandr A.** – Postgraduate Student, Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

**Kazantseva Irina A.** – MD, PhD, Professor, Leading Researcher, Department of Pathologic Anatomy<sup>2</sup>

**Kushlinskii Nikolay E.** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>2</sup>Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation