

И.Ф. Лесниченко, И.И. Кострома, С.В. Грицаев, А.В. Четкин, К.М. Абдулкадыров

Матриксная металлопротеиназа-9 в плазме аспиринов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом и миелодиспластическим синдромом

ФГБУ РосНИИ гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

Исследован уровень ММП-9 в плазме аспиринов костного мозга (ПАКМ) 87 больных: 39 с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и 48 миелодиспластическим синдромом (МДС). Больных ОМЛ распределяли в 2 группы: с уровнем бластов в костном мозге <5% (ОМЛ в ремиссии) и ≥5% (ОМЛ вне ремиссии). Больных МДС распределили в группы низкого риска с бластами <5% и высокого риска с бластами от 5 до 19%. У больных ОМЛ вне ремиссии уровень ММП-9 был ниже, чем у больных ОМЛ в ремиссии и у больных МДС высокого риска; $p=0,0001$. В группе МДС содержание ММП-9 было ниже у больных с высоким риском по сравнению с больными низкого риска; $p=0,021$. Не установлено различий в содержании ММП-2 у больных ОМЛ в ремиссии и МДС низкого риска; $p=0,086$

Заключение. Установлена ассоциация уровня ММП-9 в плазме аспиринов костного мозга больных ОМЛ и МДС с объемом лейкозной массы.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-9, острый миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — семейство эндопептидаз, обладающих способностью расщеплять компоненты экстрацеллюлярного матрикса и базальной мембраны, а также принимающих участие в модификации целого ряда молекул, включая латентные факторы роста, ингибиторы протеиназ, поверхностные рецепторы клеток и др. [1,4,7,13]. Помимо экстрацеллюлярной активности, ММП проявляют активность и в ядрах клеток различных типов [10].

Матриксные металлопротеиназы вовлечены в физиологические процессы, а также задействованы в патогенезе большого числа заболеваний: ишемической болезни сердца, воспалительных заболеваний суставов, хронических заболеваний легких, солидных опухолей [1,4,7,13].

Среди ММП наибольший интерес гематологов вызывают желатиназы ММП-2 и ММП-9. Общими субстратами желатиназ являются дена-

турированный коллаген (желатин), коллаген IV и V типа, фибронектин, плазминоген, эластин. Из них денатурированный коллаген и нативный коллаген IV типа — главные компоненты базальной мембраны, которая представляет собой основное препятствие на пути распространения опухолевых клеток [1,13]. В настоящее время активно обсуждается роль желатиназ в лейкозогенезе, исследуется ассоциация уровня и активности ММП-2 и ММП-9 с особенностями течения онкогематологических заболеваний [1,2,13]. Так предполагается, что ММП-9 является независимым прогностическим фактором у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) [9]. Вместе с тем, единичные публикации, а также небольшое число обследованных больных не позволяют сделать заключение о роли желатиназ в гемопоэзе, установить сопряженность экспрессии ММП-2 и ММП-9 с объемом лейкозного клона и эффективностью цитостатической терапии.

Цель данного исследования — определить клиническую значимость уровня ММП-9 в плазме аспиринов костного мозга (ПАКМ) больных ОМЛ и миелодиспластическим синдромом (МДС).

Материалы и методы

Для решения поставленной задачи было проведено исследование уровня ММП-9 в ПАКМ у 87 больных, из которых 39 больных ОМЛ и 48 больных МДС. Медиана возраста больных составила 38 лет (17-73). Заготовку образцов костного мозга и цитостатическую терапию проводили после подписания больными информированного согласия.

Диагноз ОМЛ и МДС устанавливали по критериям классификации ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей [12]. Среди 39 больных ОМЛ у 22 (56,4%) была констатирована ремиссия, т.е. количество бластных клеток в костномозговом пунктате было менее 5%. Из этих больных была сформирована группа “ОМЛ в ремиссии”. Остальные 17 (43,6%) больных ОМЛ, у которых количество бластных клеток в миелограмме превышало 5%, были объединены в группу “ОМЛ вне ремиссии”.

Больные МДС были также распределены в 2 группы. В группу низкого риска вошли 17 больных (35,4%) низкого и промежуточного-1 IPSS варианта. Группу высокого риска составил 31 больной (64,6%) промежуточного-2 и высокого IPSS риска. Следует отметить, что у всех больных МДС

низкого риска содержание бластов в костном мозге было менее 5%. У больных МДС высокого риска количество бластов в аспирате костного мозга находилось в диапазоне от 5 до 19%.

Больные ОМЛ получали индукционный курс по схеме “7+3” и консолидирующие курсы, включающие введение цитарабина в разовой дозе 1 г/м². Выбор терапии больных МДС зависел от морфологического и прогностического варианта, устанавливаемого по шкале IPSS [8]. Эффективность лечения оценивали по критериям Международной рабочей группы [5,6]. Срок наблюдения за больными составлял не менее 3 месяцев.

Образцы ПАКМ заготавливали до начала цитостатической терапии. Аликвоты образцов ПАКМ замораживали при -25°C и хранили до исследования. Содержание ММП-9 изучали с помощью иммуноферментных тест-систем “Human MMP-9 immunoassay” (R&D System, USA) и ИФА-анализатора “Biotek EL808” (USA). Статистическая обработка данных осуществлена с помощью программы “Статистика”. Результаты исследования проверяли на нормальность распределения с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для вычисления статистической значимости различий применяли непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

При сравнительном анализе выявлено различие в среднем уровне ММП-9 в ПАКМ больных ОМЛ с разной активностью лейкозного процесса и больных МДС с разными IPSS вариантами (рис.1).

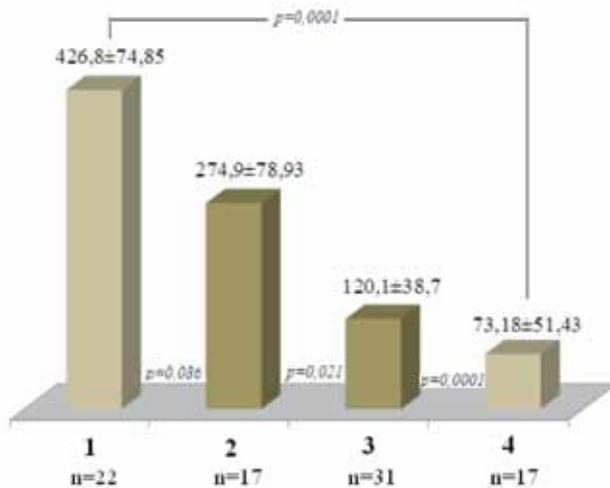


Рисунок 1. Уровень ММП-9 (нг/мл) в плазме костного мозга больных ОМЛ и МДС с разной активностью заболевания. 1 – ОМЛ в полной ремиссии. 2 – МДС низкого риска. 3 – МДС высокого риска. 4 – ОМЛ вне полной ремиссии.

Так, в группе ОМЛ уровень ММП-9 был значительно ниже у больных вне ремиссии по сравнению с больными в ремиссии: 73,18±51,43 (0,172 — 889,48) нг/мл против 426,8±74,85 (21,8 — 1556) нг/мл, соответственно; $p=0,0001$.

В группе МДС содержание ММП-9 было значительно ниже у больных высокого риска по сравнению с больными низкого риска: 120,1±38,7 (2,32 — 1019,24) нг/мл против 274,9 ±78,93

(11,12 — 1024,96) нг/мл, соответственно; $p=0,021$. При сопоставлении результатов обследования больных ОМЛ и МДС получены следующие данные. Уровень ММП-9 у больных ОМЛ в ремиссии и МДС низкого риска значительно не различался: 426,8±74,85 (21,8 — 1556) нг/мл против 274,9 ±78,93 (11,12 — 1024,96) нг/мл, соответственно; $p=0,086$. Средняя концентрация ММП-9 у больных ОМЛ вне ремиссии была значительно ниже показателя больных МДС высокого риска: 73,18±51,43 (0,172 — 889,48) нг/мл против 120,1±38,7 (2,32 — 1019,24) нг/мл, соответственно; $p=0,0001$.

У двух больных МДС был проведен мониторинг уровня ММП-9 в ПАКМ в ходе лечения. Установлено возрастание содержания ММП-9 в 6-17 раз после констатации ремиссии по сравнению с исходным уровнем. Напротив, развитие рецидива сопровождалось снижением уровня ММП-9.

При анализе данных не обнаружено корреляции уровня ММП-9, определенного в период верификации диагноза, с возрастом и морфологическим вариантом заболевания.

Анализ результатов проведенного исследования показал, что ММП-9 присутствует во всех проанализированных образцах ПАКМ в разных концентрациях.

Известно, что в норме продуцентами ММП-9 являются Т-лимфоциты, нейтрофилы, лейкоциты, моноциты, макрофаги и другие клетки КМ [1,4,7,13]. Мнения о возможном источнике ММП-9 у больных ОМЛ расходятся. Предполагается, что таковым могут быть как бластные клетки [11], так и клетки костномозговой стромы [9].

Результаты проведенного исследования не позволяют однозначно идентифицировать клетки, продуцирующие ММП-9 в костном мозге. Вместе с тем полученные данные свидетельствуют об ассоциации уровня ММП-9, выявляемого при первичной диагностике, с объемом лейкозного клона: повышенное количество бластных клеток в костном мозге сопряжено с низким уровнем ММП-9.

Максимально низкий уровень ММП-9 наблюдался у больных ОМЛ вне ремиссии, у которых количество бластных клеток в миелограмме было более 20%. По сравнению с больными вне ремиссии, концентрация ММП-9 оказалась значительно выше у больных МДС высокого риска, в миелограмме которых также имел место избыток бластных клеток, но их количество варьировало от 5% до 19%. Наибольшая концентрация ММП-9 была зафиксирована у больных ОМЛ в ремиссии и больных МДС низкого риска, т.е. в тех случаях, когда количество бластных клеток в миелограмме было менее 5%.

Подтверждением неслучайного характера обнаруженной ассоциации являются данные, полученные при мониторинге уровня ММП-9:

достижение ремиссии сопровождалось повышением концентрации ММП-9 у больных МДС, а при рецидиве отмечалось снижение ее уровня. Подобная зависимость ранее была выявлена у больных ОМЛ [3]. В предшествующих исследованиях было установлено, что содержание ММП-9 в ПАКМ здоровых лиц значительно превышает показатели у больных ОМЛ при постановке диагноза. Достижение ремиссии сопровождается повышением концентрации ММП-9 до нормальных величин [9]. Совокупность представленных результатов с данными литературы позволяет рассматривать уровень ММП-9 в ПАКМ как возможный маркер для оценки качества ответа на лечение больных как ОМЛ, так и МДС.

Существует предположение, что в норме ММП-9 участвует в мобилизации гемопоэтических клеток из костного мозга в периферическую кровь. Повреждение опосредуемого ММП взаимодействия стволовых клеток с гемопоэтическим микроокружением, в конечном итоге, сопровождается нарушением процессов пролиферации, дифференцировки и миграции лейкозных клеток [1,9,13]. Однако, детально механизмы участия ММП в гемопоэзе все еще не исследованы. Не исключено, что один из возможных путей нарушения этих механизмов может быть связан с подавлением продукции ММП-9. Причины, которые лежат в основе нарушения продукции ММП-9 клетками костного мозга, нуждаются в дальнейшем подробном изучении.

В итоге, результаты проведенного исследования свидетельствуют об ассоциации уровня ММП-9 в ПАКМ с объемом лейкозной массы. Изучение содержания ММП-9 в ПАКМ может иметь клиническое применение и использоваться в качестве дополнительного показателя, отражающего полноту ответа на проведенное лечение больных МДС и ОМЛ, а также в дифференциальной диагностике между ОМЛ и МДС.

ЛИТЕРАТУРА

- Лесниченко И. Ф., Грицаев С.В., Капустин С.И. Матриксные металло-протеиназы: характеристика, роль в лейкозогенезе и прогностическое значение // *Вопр. онкол.* -2011. — Т. 57. — № 3. — С. 286-294.
- Лесниченко И. Ф., Грицаев С.В., Сергеев А.Н., Кострома И.И. Активность матриксных металлопротеиназ ММП-2 и ММП-9 в плазме аспиратов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом // *Биомед. химия.* - 2013. — Т. 59. — № 5. — С. 578-584.
- Лесниченко И.Ф., Грицаев С.В., Кострома И.И. Матриксные металлопротеиназы-2 и -9 в плазме аспиратов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом // *Бюлл. Сиб. отд. Росс. акад. мед. наук.* — 2014. — Т. 6. — № 34. — С. 13-18.
- Chaundary A.K., Pandya S., Ghoh K., Nadkarni A. Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and hematological malignancies: An overview // *Mutat Res.* — 2013. — Vol. 1. — № 753. — P. 7-23.
- Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J. et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia // *J Clin Oncol.* — 2003. — Vol. 21. — N 24. — P. 4642-4649.
- Cheson B.D., Greenberg P.L., Bennett J.M. et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia // *Blood.* — 2006. — Vol. 108. — № 2. — P. 419-425.
- Gialeli C., Theocharis A.D., Karamanos N.K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting // *FEBS J.* — 2011. — Vol. 276. — № 1. — P. 16-27.
- Greenberg P., Cox C., LeBeau M.M. et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes // *Blood.* — 1997. — Vol. 89. — № 6. — P. 2079-2088.
- Lin L., Lin D.T., Chang C.J., Lee C.Y. et al. Marrow matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMP in acute leukaemia: potential role of MMP-9 as a surrogate marker to monitor leukaemic status in patients with acute myelogenous leukaemia // *Br J Haematol.* — 2002. — Vol. 117. — № 4. — P. 835-841.
- Manello F., Medda V. Nuclear localization of matrix metalloproteinases. // *Prog Histochem Cytochem.* — 2012. — № 47. — № 1. — P. 27-58.
- Ries C., Loher F., Zang C. et al. P.E. Matrix metalloproteinase production by bone marrow mononuclear cells from normal individuals and patients with acute and chronic myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes // *Clin Cancer Res.* — 1999. — Vol. 5. — № 5. — P. 1115-1124.
- Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes // *Blood.* — 2009. — Vol. 114. — № 5. — P. 937-951.
- Yu X.F., Han Z.C. Matrix metalloproteinases in bone marrow: roles of gelatinases in physiological hematopoiesis and hematopoietic malignancies // *Histol Histopatol.* — 2006. — Vol. 21. — № 5. — P. 519-531.

Потупила в редакцию 27.04. 2015 г.

I.F.Lesnichenko, I.I.Kostroma, S.V.Gritsaev,

A.V.Chechetkin, K.M.Abdulkadyrov

Matrix metalloproteinase-9 in plasma of bone marrow aspirates of patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome

Russian Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
St. Petersburg, Russia

There was studied the level of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in plasma of bone marrow aspirates in 87 patients: 39 with acute myeloid leukemia (AML) and 48 myelodysplastic syndrome (MDS). It has been found out an association of the level of MMP-9 in plasma of bone marrow aspirates in patients with AML and MDS with a volume of leukemic mass.

Key words: matrix metalloproteinase-9, acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome