© Коллектив авторов, 2019
УДК 618.36-007.274, 618.36-007.4
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14046>
ISSN – 2073-8137

РОЛЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И ЕЁ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА (TIMP-1) В КАЧЕСТВЕ СЫВОРОТОЧНЫХ МАРКЕРОВ ВРАСТАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ

А. А. Лукашевич, В. А. Аксененко, А. А. Дубовой,
И. Г. Нежданов, Л. Н. Можейко, И. Г. Васильев

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9 AND ITS TISSUE INHIBITOR (TIMP-1) AS SERUM MARKERS OF PLACENTA ACCRETA

Lukashevich A. A., Akseenenko V. A., Dubovoi A. A.,
Nezhdanov I. G., Mozheiko L. N., Vasilyev I. G.

Stavropol State Medical University, Russia

Определены сывороточные концентрации маркеров цитотрофобластической инвазии MMP-9 и TIMP-1 и оценена возможность использования их в качестве предикторов placenta accreta. В исследование включены 50 беременных с диагнозом «врастание плаценты», 50 беременных с предлежанием плаценты без её врастания, контрольная группа – 50 женщин, с благополучно протекающей беременностью. При исследовании сывороточных концентраций MMP-9, TIMP-1 использовался гетерогенный ИФА. Получены статистически значимые данные, позволяющие отнести MMP-9, TIMP-1 к сывороточным предикторам патологической плацентарной инвазии. Определены критические значения концентрации сывороточных биомаркеров, значимо коррелирующие с формированием врастания плаценты. Отношение сывороточной концентрации MMP-9 к TIMP-1 различалось в группах беременных с врастанием плаценты и с предлежанием без врастания.

Ключевые слова: врастание плаценты, матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9), ингибитор матриксной металлопротеиназы-1 (TIMP-1), инвазия цитотрофобласта, иммуноферментный анализ

Serum concentrations of cytotrophoblastic invasion markers MMP-9 and TIMP-1 were determined and the possibility of using them as placenta accreta predictors was evaluated. The study included 50 pregnant women with a diagnosis of «ingrowth of the placenta», 50 pregnant women with placenta previa without its ingrowth, the control group was 50 women with successfully proceeding pregnancy. In the study of serum concentrations of MMP-9, TIMP-1 a heterogeneous ELISA was used. Statistically significant data were obtained, allowing to refer MMP-9, TIMP-1 to serum predictors of pathological placental invasion. Critical values of the concentration of serum biomarkers, significantly correlated with the formation of placenta invasion, were determined. The ratio of serum concentration of MMP-9 to TIMP-1 differed in the groups of pregnant women with ingrowth of the placenta and with placenta previa without ingrowth.

Keywords: placenta accreta, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1), cytotrophoblast invasion, enzyme-linked immunosorbent assay

Для цитирования: Лукашевич А. А., Аксененко В. А., Дубовой А. А., Нежданов И. Г., Можейко Л. Н., Васильев И. Г. РОЛЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 И ЕЁ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА (TIMP-1) В КАЧЕСТВЕ СЫВОРОТОЧНЫХ МАРКЕРОВ ВРАСТАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.1):45-48. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14046>

For citation: Lukashevich A. A., Akseenenko V. A., Dubovoi A. A., Nezhdanov I. G., Mozheiko L. N., Vasilyev I. G. THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASE-9 AND ITS TISSUE INHIBITOR (TIMP-1) AS SERUM MARKERS OF PLACENTA ACCRETA. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.1):45-48. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14046> (In Russ.)

ИФА – иммуноферментный анализ
ОКС – операция кесарева сечения
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
MMP-9 – матриксная металлопротеиназа 9

MMPs – матриксные металлопротеиназы
SD – standart deviation
TIMP-1 – ингибитор матриксной металлопротеиназы-1
TIMPs – ингибиторы матриксных металлопротеиназ

В настоящее время повсеместно наблюдается увеличение частоты выполнения операции кесарева сечения. Пропорционально возрастанию частоты проведения абдоминального

родоразрешения у женщины с рубцом на матке при последующей беременности растёт риск инвазии плаценты в рубец с формированием тяжелой патологии гестационного процесса – вра-

стания плаценты [1]. По сообщениям Xiao-Yu Pan с соавт. [2] в Китае (где частота ОКС достигает 40 %) показания к гистерэктомии в акушерстве в течение последних 10 лет изменились, и если в начале 2000-х годов лидирующим показанием к гистерэктомии служила атония матки (в 2000 году – 50 % экстирпация матки, в 2015 году – 17,7 %), то в настоящее время в 77,8 % случаев показанием к гистерэктомии служит вращение плаценты [2]. В исследованиях *in vitro* было показано, что клетки цитотрофобласта при вращении плаценты обладают большей способностью к инвазии, чем в норме [3, 4]. Ключевыми факторами протеолиза при плацентации являются ферменты группы желатиназ – матриксные металлопротеиназы (MMPs) и их тканевые ингибиторы (TIMPs) [3, 5–10]. В ряде работ показано, что уровень металлопротеиназы 9 типа (MMP-9) значительно выше в сыворотке крови женщин с вращением плаценты по сравнению с небеременными и при физиологически протекающей беременности [3, 11, 12]. Концентрация TIMPs зависит от концентрации MMPs в тканях и внеклеточной жидкости, ограничивая таким образом протеолитическую активность в фокальном околоклеточном пространстве [10, 11, 13]. TIMPs содержатся в соединительной ткани, различаются в специфичности ингибирования желатиназ с наибольшей активностью TIMP-1 к MMP-9. Повышение уровня протеаз приводит к увеличению продукции ингибиторов, и определяющее значение для осуществления избыточного протеолиза в итоге имеет нарушение их баланса [10]. Ввиду сохраняющихся сложностей в диагностике вращения плаценты представляется важным найти новый способ выявления патологии на основе изучения предполагаемых биохимических предикторов вращающейся плаценты. Таким образом, целью проводимого нами исследования является определение сывороточных концентраций маркеров цитотрофобластической инвазии MMP-9, TIMP-1 и возможностей использования их в качестве предикторов *placenta accreta*.

Материал и методы. В исследование были включены 100 беременных с диагнозом предлежание плаценты, у 50 из которых интраоперационно и после гистологического исследования был верифицирован диагноз «вращение плаценты». Беременные с вращением плаценты составили основную группу (группа 1, n=50), группу сравнения составили 50 беременных без подтвержденного вращающейся плаценты (группа 2, n=50).

Оперативное родоразрешение женщин из контрольной группы (группа 3, n=50) осуществлялось при относительно благополучном течении беременности в плановом порядке по следующим показаниям: тазовое предлежание плода при относительно крупных его размерах (15 случаев); ножное предлежание плода (15 случаев); косое или поперечное положение плода (15 случаев); тазовое предлежание плода при анатомическом сужении таза (5 случаев).

Кровь для исследования брали из локтевой вены в количестве 10 мл в вакуумные пробирки Vacutainer с активатором свертывания (кремнезем). Материалом для исследования являлась сыворотка крови. В течение 30 минут при комнатной температуре и вертикальном положении пробирки завершался процесс свертывания крови, после чего кровь цен-

трифугировали 10 минут со скоростью 2500 оборотов в минуту. Сыворотка отбиралась в пробирки, замораживалась и хранилась при температуре –20 °С.

Исследование проводили методом ИФА согласно инструкциям к тест-системам фирмы Cloud Clone corp.

Статистический анализ проводился с использованием критериев Стьюдента, Манна – Уитни и Фишера на базе программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft, США) (серийный номер AXAR306F596204FA-J).

Результаты и обсуждение. Предварительно было проведено эпидемиологическое исследование распространенности патологии. За период 2011–2015 гг. отмечено значимое увеличение доли вращающейся плаценты от общего количества родов в стационаре (0,08 % в 2011 году, 0,4 % в 2015 году, при количестве родов 4880 и 4886 соответственно). Значительно возросла доля вращающейся плаценты при её предлежании (в 2011 году – 7,7 %, в 2015 году – 29,2 % от общего количества предлежащих плаценты), что, по всей видимости, связано с увеличением количества родоразрешаемых женщин с рубцом на матке после операции кесарева сечения (в 2011 году – 12,7 % от общего количества родов, в 2015 году – 17,5 %).

Возраст беременных находился в пределах 20–45 лет (средний возраст 32,2; SD 4,4). Большая часть обследуемых – беременные от 25 до 34 лет (69 %), то есть не относящиеся к позднему репродуктивному возрасту. Следует отметить, что наиболее частой соматической патологией у пациенток с вращением плаценты являлось варикозное расширение вен нижних конечностей (18 %), что может свидетельствовать о возможной роли синдрома дисплазии соединительной ткани в развитии вращающейся плаценты. У большинства беременных (53 %) хотя бы один раз выполнялось выскабливание стенок полости матки (артифициальный, хирургический аборт, самопроизвольный аборт с выскабливанием). При этом у беременных с вращением плаценты в неосложненной беременности рубцом стенки матки выскабливание полости по любым показаниям выполнялось хотя бы однократно в 92 % случаев. В связи с этим следует отметить высокую значимость выскабливания стенок полости матки как фактора риска вращающейся плаценты.

Большинство вращающихся плацентов возникает у повторнородящих беременных, особенно у беременных с рубцом на матке после операции кесарева сечения (ОКС) – в прямой пропорциональности от количества выполненных операций. При предлежании плаценты и наличии рубца после одной ОКС вращение плаценты диагностировалось в 57,5 % случаев, при предлежании и рубце на матке после двух ОКС – в 68,7 %, после трех – в 100 % случаев.

У беременных с вращением плаценты отмечено достоверное ($p<0,05$) повышение уровней MMP-9 и TIMP-1 в сыворотке крови при сравнении основной группы и группы контроля. В основной группе концентрация MMP-9 составила 423,94 нг/мл (SD=128,9; разброс значений 237,0–740,0 нг/мл), в контрольной группе – 162,7 нг/мл (SD=23,7; 120,0–269,0 нг/мл). При анализе MMP-9, исходя из полученных данных, критической величиной следует считать концентрацию 240 нг/мл: при её превышении отмечается статистически значимая ($p=0,063$) корреляция с вероятностью патологической инвазии плаценты и её вращающейся. При принятии вы-

шеуказанного значения концентрации MMP-9 за пороговое изолированная оценка уровня MMP-9 в сыворотке крови обладает чувствительностью 86 %, специфичностью – 80 %.

В основной группе беременных распределение концентраций TIMP-1 было следующим: 11,41 нг/мл (SD=4,9; разброс значений 4,28–20,1 нг/мл), в контрольной группе – 5,46 нг/мл (SD=2,83; 1,67–8,29 нг/мл). По нашим данным, критическим следует считать превышение уровня TIMP-1 в сыворотке крови выше 8,5 нг/мл. Приведенное значение показывает статистически значимую ($p<0,001$) корреляцию с вероятностью возникновения placenta accreta. При принятии данного значения концентрации за условную «норму» чувствительность метода диагностики вращающихся плаценты по TIMP-1 составляет 75 %, специфичность – 80 %.

Был проведен статистический анализ условного маркера – соотношения сывороточных концентраций MMP-9 к TIMP-1. При сравнении средних значений соотношения в основной группе и группе сравнения было выявлено достоверное ($p=0,01$) различие: в основной группе показатель составил 41,9 (SD=16,12; 21,14–74,82 нг/мл), в группе сравнения – 88,34 (SD=19,6; 30,9–270,1 нг/мл). Таким образом, соотношение MMP-9/TIMP-1 оказались ниже в группе обследуемых с вращением плаценты по сравнению с группой беременных с предлежанием плаценты, что косвенно свидетельствует о высокой активности TIMP-1 при вращении плаценты. Обобщенные данные по исследуемым показателям у беременных приведены в таблице.

Таблица

Содержание MMP-9, TIMP-1 в сыворотке крови обследуемых женщин

Группы обследуемых	MMP-9 (ng/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	MMP-9/TIMP-1
Основная (с вращением плаценты)	423,94±17,71*	11,41±1,11*	41,9±3,6
Сравнения (без вращающихся плаценты)	329,26±45,65	8,74±1,16	88,34±19,6
Контрольная	162,7±3,35	5,46±0,52	41,74±2,81

* В сравнении с контрольной группой (без предлежания и вращающихся плаценты) при $p<0,05$.

Заключение. В исследовании получены данные, позволяющие отнести MMP-9, TIMP-1 к сывороточным предикторам патологической плацентарной инвазии. Определены критические значения концентрации сывороточных биомаркеров (для TIMP-1 – 8,5 нг/мл, для MMP-9 – 240 нг/мл), значимо коррелирующие с патологической инвазией плаценты и формированием вращающихся плаценты. Введенный новый маркер – отношение сывороточной концентрации MMP-9 к TIMP-1 достоверно различался в группах беременных с вращением плаценты и с предлежанием плаценты без её вращающихся.

Информированное согласие: Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом с оформлением информированного согласия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Heller D. S. Placenta Accreta and Percreta. *Surgical Pathology Clinics*. 2013;6(1):181-197. <https://doi.org/10.1016/j.path.2012.10.003>
- Pan X. Y., Wang Y. P., Zheng Z. A Marked Increase in Obstetric Hysterectomy for Placenta Accreta. *Chin. Med. J.* 2015;128(16):2189-2193. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.162508>
- Давыдов А. И., Агба И. Б., Волощук И. Н., Киличева И. И. Клиническая оценка экспрессии иммуногистохимических маркеров в патогенезе вращающихся плаценты. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2013;(2):9-16. [Davydov A. I., Agrba I. B., Voloshchuk I. N., Kilicheva I. I. Klinicheskaya otsenka ekspressii immunogistokhimicheskikh markerov v patogeneze vrashaniya platsenty. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii*. 2013;(2):9-16. (In Russ.)].
- Jauniaux E., Jurkovic D. Placenta accreta: pathogenesis of a 20th century iatrogenic uterine disease. *Placenta*. 2012;33(4):244-251. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.11.010>
- Александрова Н. В., Баев О. Р. Ранние этапы становления системы мать-плацента-плод. *Акушерство и гинекология*. 2011;(8):4-10. [Aleksandrova N. V., Baev O. R. Ranniye etapy stanovleniya sistemy mat'-platsenta-plod. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2011;(8):4-10. (In Russ.)].
- Воднева Д. Н., Шмаков Р. Г., Щеголев А. И. Роль маркеров инвазии трофобласта в развитии преэклампсии и опухолевой прогрессии. *Акушерство и гинекология*. 2013;(11):9-12. [Vodneva D. N., Shmakov R. G., Shchegolev A. I. Rol markerov invazii trofoblasta v razvitiy preeklampsii i opukholevoy progressii. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2013;(11):9-12. (In Russ.)].
- Matijala M., Millar R., Van der Spuy Z., Katz A. The Differential Expression of Kiss1, MMP9 and Angiogenic Regulators across the Feto-Maternal Interface of Healthy Human Pregnancies: Implications for Trophoblast Invasion and Vessel Development. *PLoS One*. 2013;8(5):e63574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063574>
- Su M. T., Tsai P. Y., Tsai H. L., Chen Y. C., Kuo P. L. MiR-346 and miR-582-3p-regulated EG-VEGF expression and trophoblast invasion via matrix metalloproteinases 2 and 9. *Biofactors*. 2017;43(2):210-219. <https://doi.org/10.1002/biof.1325>
- Zhuang Y., Qian Z., Huang L. Elevated expression levels of matrix metalloproteinase-9 in placental villi and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in decidua are associated with prolonged bleeding after mifepristone-misoprostol medical abortion. *Fertil Steril*. 2014;101(1):166-171. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.09.027>
- Кан Н. Е., Тютюнник В. Л., Кесова М. И., Демур Т. А., Сергунина О. А. [и др.]. Морфологические и иммуногистохимические особенности миометрия при недифференцированной дисплазии соединительной ткани как основа развития акушерских осложнений. *Акушерство и гинекология*. 2013;(10):28-32. [Kan N. E., Tyutyunnik V. L., Kesova M. I., Demura T. A., Sergunina O. A. [et al.]. Morfologicheskiye i immunogistokhimicheskiye osobennosti miometriya pri nedifferentsirovannoi displazii soyedinitel'noi tkani kak osnova razvitiya akusherskikh oslozhnenii. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2013;(10):28-32. (In Russ.)].
- Ke Y., Lu J. H., Yang B. L., Guo H. Q., Ma Q. Y. [et al.]. Involvement of matrix metalloproteinase-2, -9, and tissue inhibitors of metalloproteinase-1, 2 in occurrence of the accrete placenta. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2006;41(5):311-314. <https://doi.org/10.3760/j.issn:0529-567x.2006.05.007>
- Nissi R., Talvensaari-Mattila A., Kotila V., Niinimäki M., Järvelä I. [et al.]. Circulating matrix metalloproteinase MMP-9 and MMP-2/TIMP-2 complex are associated with spontaneous early pregnancy failure. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 2013;15(11):2. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-2>
- Deng Q., Chen Y., Yin N., Shan N., Luo X. [et al.]. N-acetylglucosaminyltransferase V inhibits the invasion of trophoblast cells by attenuating MMP2/9 activity in early human pregnancy. *Placenta*. 2015;36(11):1291-1299. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.08.014>

Сведения об авторах:

Лукашевич Артём Алексеевич, ассистент кафедры акушерства и гинекологии;
тел.: 89064772484; e-mail: kshatriy1991@gmail.com

Аксененко Виктор Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой;
тел.: 89624026899; e-mail: aksenenko_@mail.ru

Дубовой Александр Александрович, кандидат медицинских наук, ассистент;
тел.: 89288100109; e-mail: alexanderdubovoy@gmail.com

Нежданов Игорь Геннадьевич, кандидат медицинских наук, доцент; тел.: 89624460176; e-mail: obstetrics26@gmail.com

Можейко Людмила Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент; тел.: 89280091457; e-mail: obstetrics26@gmail.com

Васильев Игорь Геннадьевич, ассистент; тел.: 89280110660; e-mail: nereidu@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 618.19-073.916

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14047>

ISSN – 2073-8137

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПТИМИЗАЦИИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ МЕТОДОМ МИКРОВОЛНОВОЙ РАДИОТЕРМОМЕТРИИ

Т. В. Замечник ¹, А. Г. Лосев ², В. В. Левшинский ²

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Россия

² Волгоградский государственный университет, Россия

RESULTS OF OPTIMIZATION OF DIAGNOSTIC SIGNS OF BREAST CANCER RECEIVED BY MICROWAVE RADIOMETRY

Zamechnik T. V.¹, Losev A. G.², Levshinsky V. V.²

¹ Volgograd State Medical University, Russia

² Volgograd State University, Russia

На основании данных обследования 367 пациенток с заболеваниями молочной железы были предложены математические описания возможных аномалий поведения температурных полей и построен набор высокоинформативных признаков, который позволит врачу с помощью «подсказки» консультативной интеллектуальной системы быстро ориентироваться в изменениях температурных полей при постановке диагноза. Математический анализ качественных признаков патологии молочной железы позволил расширить и конкретизировать описание известных признаков, выявить новые, значимые с точки зрения диагностики аномалии поведения температурных полей молочных желез, которые практически не встречаются у здоровых. За счет новых высокоспецифичных признаков значительно увеличилась чувствительность метода. При использовании минимального набора высокоинформативных признаков с высокой специфичностью в первую очередь в группе повышенного риска будут выявлены наиболее опасные быстрорастущие опухоли, диагностированы диффузные и многоочаговые поражения молочной железы, которые недостаточно верифицируются рентгенологически и при ультрасонографии.

Ключевые слова: микроволновая радиотермометрия, рак молочной железы, консультативная интеллектуальная система

Based on a survey of 367 patients with breast diseases, mathematical descriptions of possible behavioral anomalies of temperature fields were proposed, and a set of highly informative features was built that would allow the physician to orient themselves quickly with changes in temperature fields when making a diagnosis using the «hint» of a consultative intellectual system. Mathematical analysis of qualitative signs of breast pathology allowed to expand and specify the description of known signs, to identify new, significant from the point of view of diagnosis, behavior anomalies of temperature fields of the mammary glands, which are practically not found in healthy ones. Due to the new highly specific signs, the sensitivity of the method has significantly increased. Using a minimal set of highly informative signs with high specificity, primarily in the high-risk group, the most dangerous fast-growing tumors will be detected, diffuse and multifocal lesions of the mammary gland will be diagnosed, which are insufficiently verified radiographically and with ultrasonography.

Keywords: microwave radio thermometry, breast cancer, consultative intellectual system