© **Коллектив авторов**, 2012
УДК 618.19-006.6-033.2:616.71-074

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ ПОРАЖЕНИИ СКЕЛЕТА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.В. Любимова[1], доктор биологических наук, **Г.В. Кожарская**[2],
Т.В. Агеева[1], кандидат химических наук, **С.М. Портной**[1], доктор медицинских наук, **А.В.Масляев**[1],
Н.Е.Кушлинский[1], доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН

[1]ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН,

[2]ГБУЗ «Онкологический диспансер №5 Департамента зравоохранения Москвы»

E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Изучали зависимость биохимических маркеров костной резорбции (С-концевой телопептид коллагена I типа – CTX, дезоксипиридинолин – Дпид, тартратрезистентная кислая фосфатаза 5b – ТРКФ) и остеосинтеза (костная щелочная фосфатаза – КЩФ) при их определении с помощью иммуноферментного анализа от клинических проявлений метастазов в костях у 239 больных раком молочной железы (РМЖ). Установлено, что у больных с метастазами в костях (n=72) экскреция Дпид с мочой, а также концентрация CTX и активность ТРКФ и КЩФ в сыворотке крови были достоверно выше аналогичных показателей у больных без поражения скелета (n=167), а также у практически здоровых женщин (n=47). При этом достоверное увеличение (p<0,05–0,0001) зависело от степени поражения скелета (CTX, КЩФ), наличия патологического перелома (CTX, ТРКФ, КЩФ) и выраженности болевого синдрома (CTX, Дпид, ТРКФ, КЩФ). Усиление интенсивности процессов костного ремоделирования было связано с достоверным уменьшением показателей общей выживаемости больных РМЖ. Высокодостоверные различия общей выживаемости, рассчитанной с учетом пороговых уровней CTX (0,74 нг/мл) и КЩФ (43,7 Ед/л), были получены как для всей группы больных РМЖ, так и у пациенток с исходными костными метастазами, а также без поражения скелета. CTX и КЩФ являются наиболее значимыми критериями, имеющими самостоятельное значение в мониторинге и прогнозе метастатического поражения скелета у больных РМЖ.

Ключевые слова: *дезоксипиридинолин, С-концевой телопептид коллагена I типа, тартратрезистентная кислая фосфатаза 5b, костная щелочная фосфатаза, прогноз, метастазы в костях, рак молочной железы*

CLINICAL VALUE OF BONE REMODELING MARKERS IN BREAST CANCER PATIENTSWITH SKELETAL METASTASES

N.V. Lyubimova[1], G.V. Kozarskaya[2], T.V. Ageeva[1], S.M. Portnoy[1], A.V. Maslyaev[1], N.E.Kushlinsky[1]

[1]Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Re-search Center of the Russian Academy of Medical Sciences,

[2]State Budgetary Establishment of Healthcare «Oncological dispensary №5 of the Moscow Healthcare Department»

The dependence of biochemical markers of bone resorption (C-terminal telopeptide of type I collagen – b-CTx, deoxypyridinoline – DPID, tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 5b) and osteosynthesis (bone alkaline phosphatase – BALP) on clinical manifestations of bone metastases in 239 patients with breast cancer (BC) has been established with the use of ELISA method. In patients with bone metastases (n=72) DPID excretion in the urine, and the seru concentration of CTx and activity of TRAP and BALP level were found to be significantly higher if compared with BC patients without bone lesions (n=167), and healthy females (n=47). However, their significant increase (p <0,05–0,0001) depended on the extent of skeletal involvment (b-CTx, BALP), the presence of a pathological fracture (b-CTx, TRAP, BALP) and severity of pain syndrome (b-CTX, DPID, TRAP, BALP) . Intensification of the processes of bone remodeling was associated with a significant decrease in overall survival rate of BC patients. Highly significant differences in overall survival rate, calculated with taking into account the threshold levels of b-CTX (0,74 ng/ml) and BALP(43.7 U/l) were obtained in the total group of BC patients and when analyzing the group of patients with initial bone metastases, and without lesions of the skeleton. Being the most significant criteria b-CTx and BALP have independent value in monitoring and prediction of skeletal metastases in BC patients.

Key words: *deoxypyridinoline, C-terminal telopeptide of type I collagen, tartrate resistant acid phosphatase 5b, bone alkaline phosphatase, prognosis, bone metastases, breast cancer*

Скелет относится к одной из наиболее распространенных локализаций метастазов рака молочной железы (РМЖ). Метастазирование в костную ткань сопровождается усилением интенсивности процессов резорбции, а также костеобразования в результате стимуляции активности и дифференцировки

остеокластов и остеобластов под действием различных ауто- и паракринных факторов, продуцируемых злокачественными клетками [4].

В последнее время существенно возрос интерес к неинвазивным методам диагностики и мониторинга поражения скелета у онкологических больных на основе определения биохимических критериев, отражающих интенсивность процессов резорбции и формирования костной ткани [7]. Накоплен определенный клинический материал, свидетельствующий о возможности их использования в диагностике и оценке эффективности лечения костных метастазов [1, 8–10]. Большое внимание уделяется прогностической значимости маркеров остеолиза. Данные по прогностическому значению С- и N-концевых телопептидов коллагена I типа, экскреция которых с мочой усиливается в результате деструкции костного матрикса при поражении скелета у онкологических больных, представлены в ряде работ [2, 3, 5, 6]. Однако до настоящего времени отсутствует анализ результатов сравнительного исследования маркеров, отражающих разные этапы костного ремоделирования, в зависимости от клинических характеристик опухолевого процесса и при оценке прогноза поражения скелета у больных РМЖ.

В этом аспекте представляется важным исследование биохимических маркеров резорбции: С-концевого телопептида коллагена I типа (СТХ) сыворотки крови и экскретирующегося с мочой в составе фрагментов коллагена костного матрикса дезоксипиридинолина (Дпид) как критериев деструкции костной ткани, а также активности тартратрезистентной кислой фосфатазы (ТРКФ) сыворотки крови в качестве критерия активности остеокластов, в сравнении с показателем остеосинтеза – костной щелочной фосфатазой (КЩФ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 239 больных РМЖ, включая 72 пациентки с метастатическим поражением скелета. Группу сравнения составили 167 больных РМЖ без клинических или рентгенологических признаков метастатического поражения костей и не получавших до обследования противоопухолевой терапии. Контрольная группа состояла из 47 практически здоровых женщин того же возраста, что и онкологические больные.

Диагностику метастазов в костях проводили на основании данных сцинтиграфии и последующей плановой рентгенографии. Критерием отбора онкологических больных было отсутствие приема бисфосфонатов и лучевой терапии в анамнезе за последние 4 мес. В зависимости от распространенности метастатического поражения скелета больные были разделены на 2 группы: с единичными (пациентки, имеющие по данным сцинтиграфии и рентгенографии скелета один или несколько очагов поражения в пределах 1 или 2 костей) и множественными (поражение 3 и более костей) метастазами. Эффективность противоопухолевой терапии оценивали с помощью сцинтиграфии и рентгенографии скелета каждые 6 мес. Критериями прогноза являлись частота и время появления скелетных осложнений, степень болевого синдрома и общая выживаемость.

Биохимические маркеры костного метаболизма исследовали иммуноферментными методами в плашечном варианте на основе высокоспецифичных моноклональных антител. Концентрацию СТХ (нг/мл), а также активность ТРКФ (Ед/л) и КЩФ (Ед/л) в сыворотке крови определяли с использованием соответствующих тест-систем: Serum CrossLaps (Osteometer), «Bone TRAP» (IDS) и «Metra BAP» (Quidel Cor.). Определение Дпид в моче проводили реактивами «Metra DPD EIA Kit» (Quidel Cor.). Для стандартизации экскреции Дпид использовали 2-ю утреннюю спонтанную порцию мочи с последующей нормализацией концентрации телопептида к уровню креатинина в анализируемой пробе, результаты выражали в нмоль/ммоль креатинина.

Статистическую обработку результатов при ненормальном распределении проводили методом однофакторного дисперсионного анализа. Корреляционный анализ выполнен с помощью непараметрического критерия Спирмена. Оценку выживаемости и других временных параметров в группах проводили с использованием теста log-rank методом Каплан-Мейера. Различия показателей в изучаемых группах считали значимыми при $p<0,05$. Результаты в таблицах представлены в виде медианы и интервалов значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе результатов исследования маркеров костного метаболизма у больных РМЖ установлено их достоверное увеличение при метастатическом поражении скелета по сравнению с показателями у больных без признаков метастазирования в кости, а также у практически здоровых женщин (табл. 1). У больных РМЖ без клинических признаков костных метастазов достоверное превышение было характерно только для СТХ ($p<0,05$) по сравнению с показателем в группе контроля, а для Дпид выявлена тенденция к усилению экскреции ($p=0,05$). Одним из предполагаемых механизмов может быть опосредованное влияние злокачественных опухолей на синтез ауто- и паракринных факторов, усиливающих резорбцию костной ткани. Однако несмотря на отсутствие клинических признаков метастазов в кости, поражение скелета у таких больных исключить нельзя в связи с трудностями ранней диагностики метастазов.

При анализе зависимости изучаемых маркеров от распространенности метастатического поражения скелета у больных РМЖ установлено статистически достоверное увеличение показателей СТХ и КЩФ при множественных метастазах, тогда как в связи с выраженной вариабельностью статистически значимых различий для ТРКФ установить не удалось, а для Дпид усиление экскреции имело характер тенденции (табл. 2). Кроме того, у больных с единичными метастазами в костях уровень СТХ и КЩФ оставался достоверно выше, чем в группе контроля.

Наличие патологических переломов – важная клиническая характеристика выраженности остеолиза у больных РМЖ при поражении скелета. Для оценки взаимосвязи изучаемых показателей костного метаболизма с прогностически неблагоприятным скелетным осложнением больных с метастазами в костях разделили на группы в зависимости от наличия патологического перелома, верифицированного по данным рентгенологического исследования скелета. Как следует из табл. 3, наиболее выраженные изменения были характерны для маркера остеолиза СТХ, уровень которого в сыворотке крови больных с патологическим переломом высокодостоверно ($p<0,001$) превышал соответствующий показатель при отсутствии патологического перелома. Кроме того, установлено достоверное ($p<0,01$) увеличение показателя костеобразования КЩФ с преобладанием гиперферментемии в группе больных с патологическим переломом.

Установлена также зависимость маркеров от таких клинических характеристик, как выраженность болевого синдрома и получаемое обезболивание (табл. 4). При анализе зависимости биохимических показателей от болевого синдрома, оцененного также по получаемому обезболиванию, выявлено их достоверное увеличение в группах пациенток с сильной болью и получавших наркотические анальгетики по сравнению с таковым у пациенток с умеренной болью и получавших нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). При этом по степени и частоте повышения показателей остеолиза наиболее выраженные изменения были характерны для СТХ. Как и при анализе других клинических характеристик, выраженность болевого синдрома была взаимосвязана с маркером остеосинтеза КЩФ, активность которой (максимальный уровень и медиана) была значительно выше у больных с сильной болью.

Таблица 1

МАРКЕРЫ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ РМЖ И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Группа обследованных	СТХ, нг/мл	Дпид, нмоль/ммоль	ТРКФ, Ед/л	КЩФ, Ед/л
Больные РМЖ с метастазами	0,87** (0,10–3,52)	10,3* (2,4–36,1)	6,9** (1,68–28,7)	45,6** (5,4–135,5)
Больные РМЖ без метастазов	0,39* (0–1,53)	8,8 (1,3–20,1)	5,3 (0,04–22,5)	23,5 (4,9–101,7)
Контрольная группа	0,34 (0–0,72)	7,6 (1,0–14,0)	5,6 (1,03–11,9)	26,4 (7,7–67,3)

Примечание: * – различия достоверны ($p<0,05$) по сравнению с контролем; ** – различия высокодостоверны ($p<0,01–0,001$) по сравнению с показателями в контроле и группы больных без метастазов. В скобках (здесь и в последующих таблицах – пределы колебаний).

Таблица 2

ЗАВИСИМОСТЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ СКЕЛЕТА У БОЛЬНЫХ РМЖ

Группа обследованных	СТХ, нг/мл	Дпид, нмоль/ммоль	ТРКФ, Ед/л	КЩФ, Ед/л
Больные с единичными метастазами	0,43 (0,07–1,34)	9,2 (3,4–19,6)	5,6 (1,36–127,0)	33,1 (5,4–80,5)
Больные с множественными метастазами	0,62 (0–3,52)	11,4 (5,7–26,8)	5,0 (0,3–113,0)	45,6 (11,8–135,5)
p	<0,001	=0,05	>0,05	<0,001

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ РМЖ С КОСТНЫМИ МЕТАСТАЗАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПЕРЕЛОМА

Показатель	Больные РМЖ с патологическим переломом	Больные РМЖ без патологического перелома	p
СТХ, нг/мл	1,10 (0,4–3,43)	0,60 (0,24–0,92)	<0,001
КЩФ, Ед/л	54,5 (9,5–160,6)	29,8 (11,8–93,2)	<0,01
Дпид, нмоль/ммоль	14,3 (2,4–27,9)	12,4 (3,8–26,8)	>0,05
ТРКФ, Ед/л	11,2 (4,9–28,7)	8,1 (4,6–17,9)	<0,05

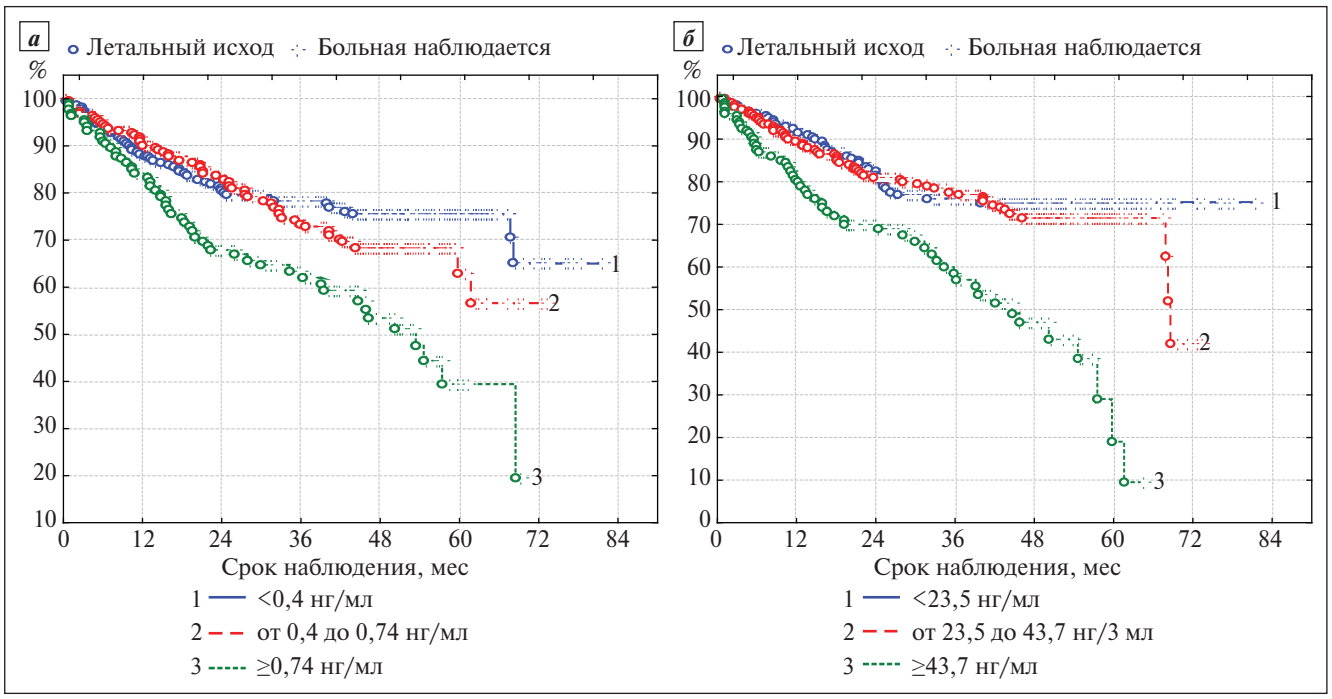
Таблица 4

ПОКАЗАТЕЛИ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ РМЖ С КОСТНЫМИ МЕТАСТАЗАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ БОЛЕВОГО СИНДРОМА

Показатель	Умеренная боль	Сильная боль	p
СТХ, нг/мл	0,4 (0,02–0,9)	1,0 (0,4–3,5)	<0,001
КЩФ, Ед/л	34,6 (9,5–160,6)	59,8 (11,8–185,3)	<0,001
Дпид, нмоль/ммоль	9,1 (0–22,6)	13,8 (2,4–27,8)	<0,001
ТРКФ, Ед/л	8,1 (1,6–19,4)	10,9 (4,0–28,7)	<0,01

В соответствии с установленной зависимостью биохимических показателей остеолиза (СТХ) и остеосинтеза (КЩФ) от клинических признаков метастатического поражения скелета, свидетельствующей об их прогностической значимости, представлялось важным оценить взаимосвязь этих показателей с общей выживаемостью больных РМЖ (рис. 1). Анализ общей выживаемости больных проводили с учетом рассчитанных пороговых уровней этих маркеров. В соответствии с полученными кривыми выживаемости показано, что при значениях СТХ в сыворотке крови больных РМЖ выше порогового уровня (0,74 нг/мл) 5-летняя выживаемость составила 39,4%, тогда как при показателях <0,74 нг/мл она была достоверно (p<0,01) выше (63%). При этом медиана общей выживаемости у больных с нормальным остеолизом не была достигнута, тогда как при повышенных уровнях СТХ, отражающих усиленный остеолиз, она составила 51,2 мес (p=0,0029). Достоверные различия установлены также при расчете общей выживаемости больных РМЖ с учетом порогового уровня КЩФ: 5-летняя выживаемость была существенно ниже (19,2%) при гиперферментемии (>43,7 Ед/л), тогда как при значениях фермента ниже порогового уровня она составила 71,7%. Аналогично результатам анализа СТХ, медиана срока жизни при показателях КЩФ ниже порогового (43,7 Ед/л) уровня не была достигнута, достоверно (p=0,00016) превышая медиану общей выживаемости при гиперферментемии, которая составила 44 мес.

Следует отметить, что высокодостоверные различия общей выживаемости, рассчитанной с учетом пороговых уровней СТХ (0,74 нг/мл) и КЩФ (43,7 Ед/л), были получены как для всей группы больных РМЖ, так и в группах пациенток с исходными костными метастазами, а также без поражения скелета. Установленная зависимость биохимических показателей остеолиза (СТХ) и остеосинтеза (КЩФ) от клинических проявлений метастазов в костях, а также общей выживаемости больных РМЖ свидетельствует о возможности их использования в качестве объектив-



Общая выживаемость (%) больных РМЖ с учетом уровня СТХ (а) и КЩФ (б)

ных признаков метастатического поражения скелета. Повышенные значения СТХ и КЩФ, отражающие интенсивность одновременно протекающих остеолиза и остеосинтеза у больных РМЖ, свидетельствуют о нарушении баланса этих процессов в сторону преобладания остеолиза.

Проведенный анализ показал, что оценка состояния костного ремоделирования на основе исследования СТХ и КЩФ в сыворотке крови больных РМЖ имеет прогностическое значение не только в отношении дальнейшего течения болезни, но и прогноза для жизни. У больных с высокими биохимическими показателями значительно раньше возникали скелетные осложнения, резко ухудшающие качество жизни, а также снижалась общая выживаемость. В этой связи можно добавить, что одним из практических аспектов отмеченной нами закономерности может быть индивидуализация назначения бисфосфонатов, в частности, с целью интенсификации лечения при высоком уровне маркеров костного метаболизма.

Полученные нами результаты согласуются с опубликованными в последнее время работами других авторов, в которых отражено прогностическое значение маркеров костной резорбции С- и N-концевых телопептидов коллагена I типа у больных с поражением скелета при злокачественных новообразованиях различной локализации. В соответствии с результатами определения экскреции с мочой NTx авторами были выделены группы больных с высоким, умеренным и низким уровнем остеолиза, при этом больных со скелетными осложнениями во время исследования было значительно больше при высоком, чем при нормальном уровне остеолиза [5]. Кроме того, высокая экскреция NTx коррелировала с повышенным риском прогрессирования костных метастазов, а также резко увеличивала вероятность смерти. Высокая прогностическая значимость экскреции NTx и CTx отмечена также другими авторами [2, 3].

Таким образом, показатели СТХ и КЩФ отражают особенности костного ремоделирования у больных РМЖ, заключающиеся в интенсификации как костной резорбции, так и костеобразования с преобладанием процессов остеолиза. Взаимосвязь биохимических маркеров между собой и с клиническими характеристиками метастатического процесса делает возможным их определение для оценки прогноза поражения скелета. Кроме того, серийные исследования этих показателей в сыворотке крови больных РМЖ с костными метастазами способствуют оптимизации тактики применения бисфосфонатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Любимова Н.В., Пашков М.В., Кожарская Г.В. и др. Значение биохимических маркеров костного метаболизма при поражении скелета у больных раком молочной и предстательной желез // Сибирский онкологический журнал. – 2006; 3: 116–7.
2. Ali S., Demers L., Leitzel K. et al. Baseline serum NTx levels are prognostic in metastatic breast cancer patients with bone-only metastasis // Ann. Oncol. – 2004; 15: 455–9.
3. Brown J., Thomson C., Ellis S. et al: Bone resorption predicts for skeletal complications in metastatic bone disease // Br. J. Cancer. – 2003; 89: 2031–7.
4. Chirgwin J., Guise T. Molecular mechanisms of tumor-bone inter-actions in osteolytic metastases // Crit. Rev. Eukaryot Expr. – 2000; 10 (2): 159–78.
5. Coleman R., Major P., Lipton A. et al. Predictive Value of Bone Re-sorption and Formation Markers in Cancer Patients With Bone Metastases Re-ceiving the Bisphosphonate Zoledronic Acid // J. Clin. Oncol. – 2005; 23: 4925–35.
6. Costa B., Demers L., Gouveia-Oliveira A. et al. Prospective evaluation of the peptide-bound collagen type I Cross-Links N-telopeptide and C-telopeptide in predicting bone metastases status // J. Clin. Oncol. – 2002; 20 (3): 850–6.
7. Demers L., Costa L., Lipton A. Biochemical marker and skeletal metastases // Clin. Orthop. – 2003; 415: 138–47.
8. Izumi M., Nakanishi Y., Takayama K. et al. Diagnostic value of bone-turnover metabolites in the diagnosis of bone metastases in patients with lung carcinoma // Cancer. – 2001; 91 (8): 1487–93.
9. Lüftner D., Richter A., Geppert R. et al. Normalization of bio-chemical markers of bone formation correlates with clinical benefit from therapy in metastatic breast cancer // Anticancer Res. – 2003; 23 (2A): 1017–26.
10. Pectasides D., Nikolaou M., Farmakis D. et al. Clinical Value of Bone Remodelling Markers in Patients with Bone Metastases Treated with Zoledronic Acid // Anticancer Res. – 2005; 25: 1457–63.