



Оригинальная статья

Галектин-3 и матриксные металлопротеиназы 2 и 9 в крови больных раком желудка

Короткова Е.А.¹ • Герштейн Е.С.^{1,2} • Самойлова Е.В.¹ • Горячева И.О.¹ • Петросян А.П.¹ • Зыбина Н.Н.³ • Янушевич О.О.² • Стилиди И.С.¹ • Кушлинский Н.Е.^{1,2}

Короткова Екатерина Андреевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2509-5232>
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23, Российская Федерация. E-mail: katinka-kor@yandex.ru

Герштейн Елена Сергеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии¹; профессор кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>. E-mail: esgershtein@gmail.com

Самойлова Екатерина Вячеславовна – биолог лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3178-8331>. E-mail: mediket@mail.ru

Горячева Ирина Олеговна – врач клинической лабораторной диагностики лаборатории клинической биохимии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-291X>. E-mail: irina.goriacheva@gmail.com

Петросян Арам Паруирович – врач-онколог хирургического отделения № 7¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2149-4236>. E-mail: aramsurgeon@mail.ru

Зыбина Наталья Николаевна – д-р биол. наук, профессор, заведующая отделом лабораторной диагностики³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5422-2878>. E-mail: zybinan@inbox.ru

Янушевич Олег Олегович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, ректор³; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>. E-mail: nauch.ot@mail.ru

Стилиди Иван Сократович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>. E-mail: info@ronc.ru

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии¹; заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>. E-mail: biochimia@yandex.ru

Актуальность. Высокие показатели заболеваемости раком желудка (РЖ), агрессивное клиническое течение, быстрая диссеминация опухолевого процесса, низкая чувствительность к лекарственной терапии и отсутствие надежных лабораторных критериев диагностики определяют необходимость поиска наиболее информативных маркеров заболевания, характеризующих фундаментальные биологические свойства опухолей.

Цель – сравнительная оценка уровней галектина-3, матриксных металлопротеиназ (ММП) 2 и 9 в крови больных РЖ и практически здоровых доноров, анализ взаимосвязи этих маркеров с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания, а также прогноз общей и безрецидивной выживаемости.

Материал и методы. Обследовали 60 первичных ранее не леченных больных РЖ (38 мужчин и 22 женщины) в возрасте от 29 до 81 года, а также 90 практически здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу. Галектин-3 определяли в плазме крови с ЭДТА, а ММП-2 и ММП-9 – в сыворотке крови с помощью стандартных наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа (Human MMP-2 (total), Human MMP-9 (total), Human Galectin-3 (R&D Systems, США)).

Результаты. Концентрация галектина-3 в плазме крови больных РЖ была статистически значимо выше, чем у здоровых доноров (медианы 12,9 и 10,6 нг/мл соответственно; $p < 0,0001$). Уровни ММП-9 в сыворотке крови больных РЖ и здоровых доноров не различались, тогда как уровень ММП-2 в группе контроля был статистически значимо выше, чем у больных РЖ ($p = 0,039$). Не установлено корреляционных взаимосвязей между концентрациями галектина-3, ММП-2 и ММП-9 в крови больных РЖ. В отличие от больных РЖ, в контроле выявлена статистически значимая положительная корреляция содержания галектина-3 в плазме крови с возрастом ($r_s = 0,51$, $p < 0,005$). Не обнаружили ассоциации между содержанием

маркеров в крови и клинко-морфологически особенностями РЖ, за исключением ММП-9, уровни которой были выше при опухолевой инвазии серозной оболочки T_{4a} по сравнению с более ранней формой, соответствующей T_2 . Выраженные различия в показателях общей выживаемости в зависимости от уровня галектина-3 в плазме крови выявлены при пороговом уровне 12,9 нг/мл: общая 5-летняя выживаемость была выше при низких уровнях маркера (50 и 43% соответственно, но $p > 0,1$). Как общая, так и безрецидивная выживаемость больных РЖ была выше в группе пациентов с низким уровнем ММП-2 (менее 212 нг/мл): общая 5-летняя выживаемость в этой группе составила 60% против 23% в группе больных с высоким содержанием маркера ($p = 0,018$). Различия в безрецидивной выживаемости не достигали уровня статистической значимости. Уровень ММП-9 статистически значимо не влиял на выживаемость больных РЖ.

Заключение. Получены неоднозначные данные о клиническом значении галектина-3, ММП-2 и ММП-9 при РЖ, указывающие на необходимость проведения дополнительных исследований для оценки возможности их использования в диагностике и прогнозировании результатов лечения.

Ключевые слова: рак желудка, галектин-3, матриксная металлопротеиназа 2, матриксная металлопротеиназа 9, сыворотка крови, плазма крови

Для цитирования: Короткова ЕА, Герштейн ЕС, Самойлова ЕВ, Горячева ИО, Петросян АП, Зыбина НН, Янушевич ОО, Стилиди ИС, Кушлинский НЕ. Галектин-3 и матриксные металлопротеиназы 2 и 9 в крови больных раком желудка. Альманах клинической медицины. 2023;51(1):23–31. doi: 10.18786/2072-0505-2023-51-001.

Поступила 21.12.2022; доработана 19.01.2023; принята к публикации 27.01.2023; опубликована онлайн 22.02.2023

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1, Российская Федерация

³ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России; 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4–2, Российская Федерация

В России рак желудка (РЖ) остается в числе самых распространенных онкологических заболеваний и выявляется у 5,9% всех больных злокачественными новообразованиями. Наиболее частый гистологический тип РЖ – аденокарцинома. При этом РЖ имеет выраженную гетерогенность как морфологическую, так и молекулярно-генетическую. Использование только гистологической классификации РЖ не отвечает целям индивидуализации диагностики и лечения. В последнее время проводится активный поиск новых предиктивных и/или прогностических молекулярных маркеров для определения эффективности лекарственного лечения и оценки прогноза клинического течения заболевания [1].

Сегодня в качестве одного из перспективных маркеров онкологических заболеваний рассматривается представитель семейства лектинов галектин-3 [2, 3]. Идентифицировано 15 галектинов, которые делят на три типа: прототипы галектинов с одним одиночным доменом распознавания углеводов; галектины с тандемными повторами и двумя одиночными доменами распознавания углеводов; галектины химерного типа с одним одиночным доменом распознавания углеводов [4]. Галектин-3 – единственный белок химерного типа, широко экспрессирующийся в тканях человека, включая иммунные (макрофаги, моноциты, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, естественные клетки-киллеры и активированные Т- и В-клетки), эпителиальные и эндотелиальные клетки, а также сенсорные нейроны [5]. Галектин-3 считается маркером неопластических процессов, поскольку он способен как ингибировать, так и индуцировать рост и дифференцировку клеток, активно участвует в процессах ангиогенеза и апоптоза, стимулирует метастазирование, оказывает иммуносупрессивное воздействие и принимает участие в межклеточных взаимодействиях [6–9]. В своей структуре галектин-3 имеет N-концевой домен, который чувствителен к протеолизу матриксными металлопротеиназами (ММП) и может участвовать во взаимодействии с другими внутриклеточными белками. Экспериментально доказано, что ММП расщепляют галектин-3 *in vitro*. Группа американских исследователей разработала дифференциальные антитела, распознающие его расщепленные и нерасщепленные формы, и протестировала их клиническое значение в качестве суррогатного диагностического маркера на наличие активных ММП при прогрессирующем раке молочной железы.

Некоторые авторы полагают, что при опухолевой прогрессии активное расщепление галектина-3 может быть использовано в качестве простого, быстрого и надежного суррогатного маркера активности ММП [10, 11].

В опухолевой инвазии задействовано несколько классов протеаз, к важнейшим из которых следует отнести семейство ММП, или матриксинов, названных так именно за свою способность специфически гидролизовать все основные белки внеклеточного матрикса, в первую очередь коллаген. Семейство ММП состоит более чем из 20 эндопептидаз, которые участвуют во всех этапах опухолевой прогрессии, но ключевыми для инвазии и метастазирования считаются желатиназы А (ММП-2) и В (ММП-9) [12].

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка уровней галектина-3, ММП-2 и ММП-9 в крови больных РЖ и практически здоровых доноров, анализ взаимосвязи этих маркеров с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания, а также прогнозом общей и безрецидивной выживаемости.

Материал и методы

В сравнительное клинико-лабораторное исследование включены 60 первичных больных РЖ (38 мужчин и 22 женщины) в возрасте от 29 до 81 года (медиана – 62 года) и 90 практически здоровых доноров в возрасте от 18 до 83 лет. Пациенты были обследованы и получали лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с ноября 2016 по декабрь 2019 г. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 9 от 12.12.2016). Пациенты дали информированное согласие на участие в нем.

Диагноз у всех больных подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (Всемирная организация здравоохранения, 2020). У 4 (6,7%) больных выявлен высокодифференцированный, у 14 (23,3%) умереннодифференцированный и у 42 (70%) низкодифференцированный РЖ. Стадия I РЖ диагностирована у 11 (18,3%), II – у 12 (20%), III – у 21 (35%), IV – у 16 (26,6%) пациентов. У 18 (30%) больных опухоль локализовалась в проксимальном отделе желудка, у 25 (42%) в теле желудка, у 10 (17%) в дистальном отделе, в 2 (3%) случаях диагностирован

**Таблица 1.** Концентрация матричных металлопротеиназ 2 и 9 и галектина-3 в крови больных раком желудка и здоровых доноров, нг/мл

Показатель	Рак желудка				Контрольная группа			
	N	медиана	мин. – макс.	квартили	N	медиана	мин. – макс.	квартили
ММП-2	60	219*	126–508	200–250	58	521*	295–1594	436–681
ММП-9	60	952	407–1582	673–1155	58	967	239–1732	756–1195
Галектин-3	60	12,9**	5,33–31,9	9,15–17,3	32	10,6**	5,42–25,0	7,55–12,3

N – количество пациентов, ММП – матричная металлопротеиназа

*p = 0,039 (тест Манна – Уитни) по сравнению с контрольной группой

**p < 0,0001 (тест Манна – Уитни) по сравнению с контрольной группой

кардиоэзофагеальный рак, тотальное поражение желудка выявлено у 5 (8%) больных.

Всего в группу контроля вошли 90 практически здоровых доноров. Из них у 58 человек исследовали ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови и у 32 определяли галектин-3 в плазме крови с ЭДТА. Определение выполняли с помощью стандартных наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа до проведения специфического лечения (Human MMP-2 (total), Human MMP-9 (total), Human Galectin-3 (все – Quantikine, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения выполняли на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в нанограммах (нг) на 1 мл сыворотки (плазмы) крови.

Статистический анализ клинико-лабораторных данных осуществляли на персональном компьютере с помощью математического пакета Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии: Манна – Уитни для попарных сравнений, Краскела – Уоллиса и коэффициент корреляции рангов Спирмена для множественных сравнений. Выживаемость больных РЖ рассчитывали методом Каплана – Мейера с оценкой статистически значимых различий с помощью log-rank теста. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

На первом этапе исследования провели сравнительный анализ содержания маркеров в крови больных РЖ и здоровых доноров (табл. 1). Концентрация галектина-3 в плазме крови оказалась статистически значимо выше у больных РЖ, чем в группе контроля ($p < 0,0001$). При сравнении сывороточных концентраций ММП-2 и ММП-9

Таблица 2. Концентрация матричных металлопротеиназ 2 и 9 и галектина-3 у больных раком желудка в зависимости от локализации опухолевого процесса, нг/мл (медиана [квартили])

Локализация опухоли в желудке	N	ММП-2	ММП-9	Галектин-3
Проксимальный отдел	18	222 [201–253]	782 [453–1137]	10,3 [8,3–15,2]
Тело желудка	25	220 [196–251]	1053 [757–1155]	14,1 [11,6–17,7]
Дистальный отдел	10	210 [177–246]	1033 [952–1256]	16,1 [7,55–17,4]
Кардиоэзофагеальный рак	2	204 [164–245]	668 [530–806]	8,9 [5,7–12,1]
Тотальное поражение желудка опухолью	5	233 [233–265]	937 [532–1266]	12,0 [10,4–14,0]

N – количество пациентов, ММП – матричная металлопротеиназа

Таблица 3. Концентрация матричных металлопротеиназ 2 и 9 и галектина-3 в крови больных раком желудка в зависимости от степени дифференцировки опухоли, нг/мл (медиана [квартили])

Степень дифференцировки опухоли	N	ММП-2	ММП-9	Галектин-3
Высокодифференцированная аденокарцинома	4	200 [166–240]	530 [453–806]	11,3 [8,1–14,2]
Умереннодифференцированная аденокарцинома	14	219 [188–234]	935 [750–1212]	13,8 [11,3–18,1]
Низкодифференцированная аденокарцинома	42	215 [196–265]	960 [680–1190]	13,8 [8,8–17,4]

N – количество пациентов, ММП – матричная металлопротеиназа

у больных РЖ с группой здоровых доноров установлено, что уровни ММП-9 практически не различались в обеих группах, тогда как уровень ММП-2 в группе здоровых доноров был статистически значимо выше ($p < 0,05$).

Не установлено значимых корреляционных взаимосвязей между концентрациями галектина-3, ММП-2 и ММП-9 в крови обследованных

**Таблица 4.** Содержание матриксных металлопротеиназ 2 и 9 и галектина-3 в крови больных раком желудка в зависимости от критериев системы TNM, нг/мл (медиана [квартили])

Показатель	N	ММП-2	ММП-9	Галектин-3
Глубина инвазии (T)				
T ₁	7	201 [163–263]	758 [489–1031]	17,4 [10,5–20,6]
T ₂	4	202 [182–209]	472 [407–806]*	12,8 [10,6–14,9]
T ₃	10	220 [204–272]	758 [500–1053]	11,4 [8,5–22,6]
T _{4a}	32	213 [188–245]	944 [754–1131]*	11,9 [8,84–16,7]
T _{4b}	6	246 [208–265]	668 [532–1226]	14,9 [13,6–19,3]
Метастазы в лимфатических узлах (N)				
N ₀	27	209 [171–234]	732 [472–1121]	12,3 [9,10–17,7]
N ₁	8	189 [181–225]	933 [668–1161]	15,7 [9,54–17,4]
N ₂	14	232 [196–245]	944 [754–1127]	11,7 [8,7–15,6]
N _{3a}	9	245 [204–356]	810 [639–1110]	14,6 [10,7–19,3]
Отдаленные метастазы (M)				
M ₀	46	209 [171–234]	732 [472–1121]	12,9 [9,1–17,2]
M+	13	189 [181–225]	933 [668–1161]	14,0 [9,2–17,3]

N – количество пациентов, ММП – матриксная металлопротеиназа

*p = 0,045; T₂ < T_{4a}**Таблица 5.** Содержание матриксных металлопротеиназ 2 и 9 и галектина-3 в крови больных раком желудка в зависимости от клинко-морфологической стадии заболевания, нг/мл (медиана [квартили])

Стадия	N	ММП-2	ММП-9	Галектин-3
IA	6	201 [162–258]	758 [489–1031]	16,1 [10,5–20,6]
IB	5	202 [181–215]	472 [407–806]	13,4 [12,1–16,3]
IIA	5	215 [209–259]	680 [411–1121]	11,6 [10,5–22,6]
IIB	7	201 [169–213]	1053 [952–1190]	7,4 [6,3–17,7]
IIIA	4	226 [198–254]	801 [469–997]	9,54 [8,74–21,0]
IIIB	8	235 [232–248]	859 [712–1086]	11,6 [10,4–15,6]
IIIC	9	246 [203–352]	793 [530–936]	14,7 [10,7–16,8]
IV	16	202 [184–225]	960 [682–1226]	14,1 [10,5–17,3]

N – количество пациентов, ММП – матриксная металлопротеиназа

больных. В отличие от больных РЖ, в группе контроля выявлена выраженная статистически значимая положительная корреляция ($r_s = 0,51$, $p < 0,05$) содержания галектина-3 в плазме крови с возрастом.

Локализация первичной опухоли в желудке влияет как на течение, так и на прогноз заболевания. При анализе содержания галектина-3, ММП-2 и ММП-9 у больных РЖ явных различий их уровней в зависимости от локализации опухоли в желудке не обнаружили (табл. 2). Однако следует отметить тенденцию к увеличению уровней галектина-3 и ММП-9 у больных с опухолями, локализованными в теле и дистальном отделе желудка, характеризующимися более благоприятным течением, чем опухоли, поражающие проксимальный отдел.

Не выявили статистически значимых различий в уровнях ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови больных РЖ в зависимости от степени дифференцировки опухоли (табл. 3); различия не обнаружены также и для галектина-3.

Уровни галектина-3 и ММП-2 в крови больных РЖ не зависели от глубины инвазии опухоли, лимфогенного и гематогенного метастазирования (табл. 4). Следует отметить статистически значимое увеличение концентрации ММП-9 в сыворотке крови больных РЖ при опухолевой инвазии серозной оболочки T_{4a} по сравнению с более ранней формой, соответствующей T₂ (см. табл. 4; $p = 0,045$).

Мы также не обнаружили ассоциации между содержанием маркеров в крови и клинко-морфологической стадией РЖ (табл. 5).

Для оценки прогностической значимости исследованных маркеров проанализировали показатели 5-летней общей и безрецидивной выживаемости обследованных больных РЖ. Расчет общей выживаемости проведен для 60 больных, прослеженных на протяжении от 1 до 70 месяцев (медиана 25,3 месяца). За весь период наблюдения умерли 32 пациента, что составило 53,3%. Продолжительность жизни умерших пациентов была в пределах от 1 до 69 месяцев (медиана 42 месяца). Безрецидивную выживаемость удалось проследить только у 43 больных. Рецидив в течение 3–36 месяцев (медиана 12 месяцев) выявлен у 17 пациентов.

Для оценки влияния уровня галектина-3 на общую и безрецидивную выживаемость больных РЖ при выборе пороговых значений рассматривали концентрации маркера в плазме крови больных РЖ, соответствующие верхнему и нижнему квартилям, а также медиане. Статистически

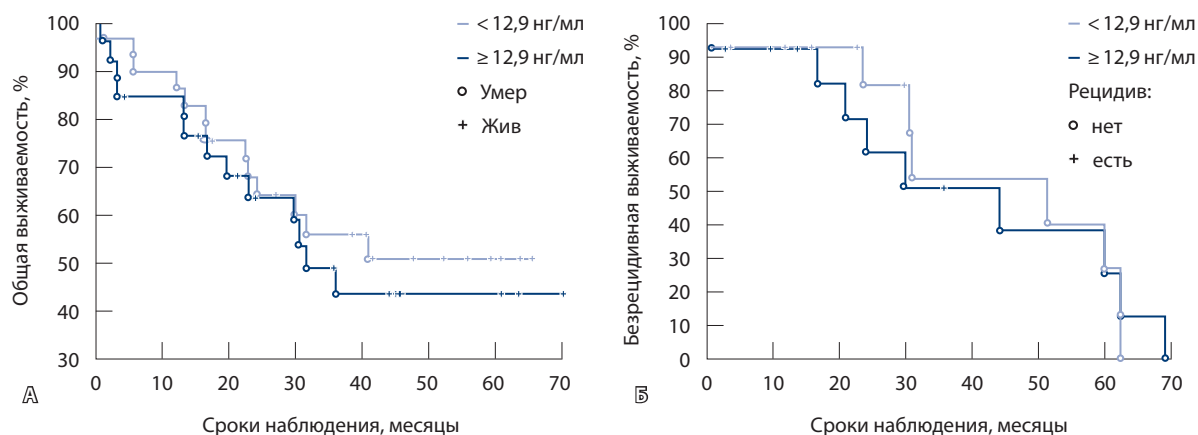


Рис. 1. Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка в зависимости от концентрации галектина-3 в плазме крови. Выживаемость рассчитана методом Каплана – Мейера

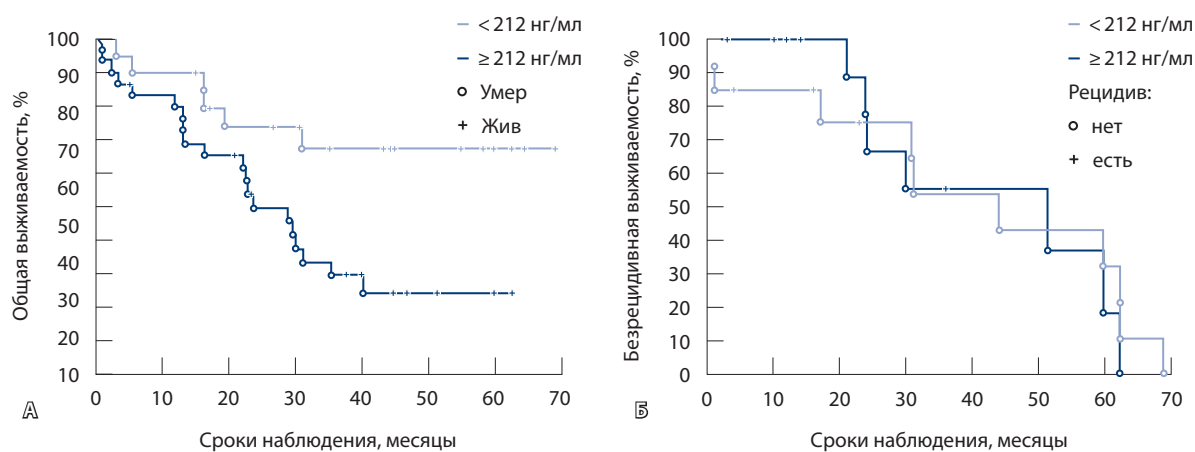


Рис. 2. Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка в зависимости от концентраций ММП-2 в сыворотке крови пациентов. Выживаемость рассчитана методом Каплана – Мейера

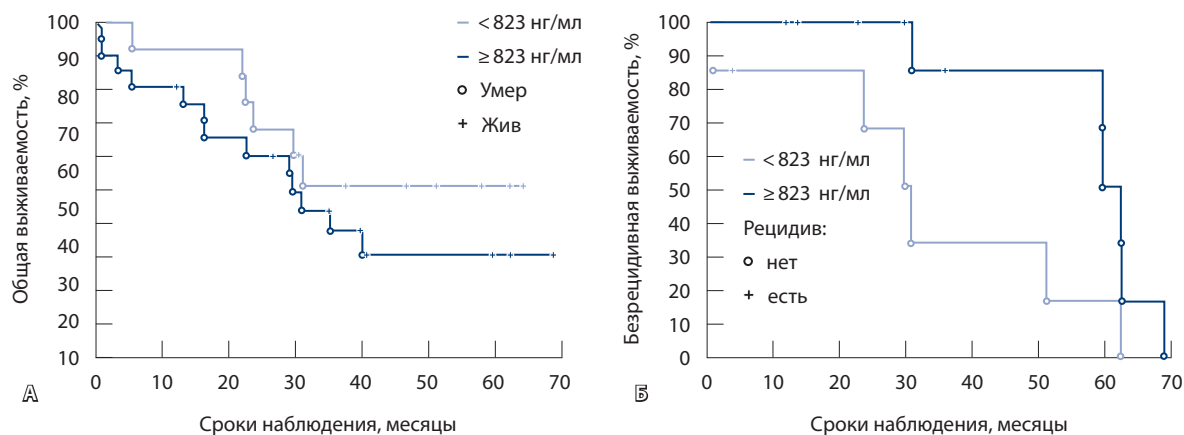


Рис. 3. Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка в зависимости от концентраций ММП-9 в сыворотке крови пациентов. Выживаемость рассчитана методом Каплана – Мейера

значимых различий общей выживаемости при данных дискриминационных уровнях не отмечено. Наиболее выраженные различия удалось получить при использовании показателя медианы галектина-3 (12,9 нг/мл) (рис. 1А): общая 5-летняя выживаемость в группе пациентов с концентрацией галектина-3 ниже 12,9 нг/мл была выше, чем у больных с более высоким уровнем данного маркера, и превысила 50%. Выживаемость в группе с содержанием маркера более 12,9 нг/мл составила 43% (медиана 30 месяцев), однако различия не достигали уровня статистической значимости ($p=0,59$). Как следует из данных рис. 1Б, кривые безрецидивной выживаемости больных РЖ в зависимости от уровня галектина-3 практически не различались ($p=0,52$).

Выбор пороговых значений для оценки влияния уровней ММП-2 и ММП-9 на общую и безрецидивную выживаемость выполняли на основании данных о содержании этих белков в сыворотке крови больных РЖ, в качестве дискриминационных уровней выбрали медианные показатели данных маркеров (212 нг/мл для ММП-2; 823 нг/мл для ММП-9). Показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости больных РЖ были значительно выше в группе пациентов с низким уровнем ММП-2 (менее 212 нг/мл). Общая 5-летняя выживаемость в этой группе составила 70 против 32% (медиана 30 месяцев) в группе больных с высоким содержанием маркера (рис. 2А; $p=0,018$). Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости составили 42 и 37% (медиана 30 месяцев) у больных с высокой и низкой концентрацией сывороточной ММП-2 соответственно, но это различие не достигало уровня статистической значимости (рис. 2Б; $p=0,701$).

Что касается связи уровня ММП-9 в сыворотке крови с прогнозом больных РЖ, статистически значимых различий мы не обнаружили, но прослеживалась тенденция к улучшению показателей выживаемости при уровнях маркера ниже порогового (823 нг/мл). Показатели общей и безрецидивной 5-летней выживаемости в группе с низкой концентрацией маркера составили 58 и 18% (медиана 32 месяца) соответственно, а в группе с высокой концентрацией ММП-9 в крови общая выживаемость составила 38% (медиана 31 месяц), безрецидивная – 46% (медиана 60 месяцев) (рис. 3; $p=0,29$ и $p=0,116$ соответственно).

Обсуждение

Поиск современных высокочувствительных биохимических и молекулярно-биологических

маркеров для диагностики и оценки прогноза злокачественных опухолей желудка представляется крайне актуальным в связи с частым выявлением этой опухоли, но во многих случаях результаты оценки их клинической значимости оказываются мало обнадеживающими. Тем не менее время от времени появляются публикации, которые стимулируют интерес не только экспериментаторов, но и клинических онкологов к этой проблеме. Представленная нами работа посвящена исследованию патогенетических факторов, которые имеют тесную связь с активным ростом, инвазией и метастазированием опухолей, в том числе и РЖ. Среди этих маркеров – ММП, которые относят к ключевым факторам, ассоциированным с инвазией и метастазированием опухолевых клеток [13], и галектин-3, который входит в большое семейство лектинов, связывающих β -галактозиды с эволюционно консервативным доменом распознавания углеводов [14]. Установлено, что N-концевой домен галектина-3 необходим для его мультимеризации и чувствителен к протеолизу ММП [4]. Следовательно, наш интерес к галектину-3 и выбор ММП для их одновременного изучения у больных РЖ не случайны и обусловлены тем, что в онкологии галектин-3 считают одним из активных биологических маркеров опухолевой трансформации, который часто ассоциирован с прогрессией злокачественных новообразований [15, 16], а ММП, в первую очередь желатиназы А и В (ММП-2 и ММП-9) – ключевые регуляторы таких важнейших свойств злокачественных опухолей, как инвазия, метастазирование и неоангиогенез. Как мы полагаем, сравнительный анализ вышеуказанных биологических маркеров при свершившейся опухолевой трансформации у больных РЖ и у практически здоровых доноров группы контроля позволит выделить те факторы, которые могут иметь значение в клинике этого заболевания.

Прежде всего мы провели сравнительный анализ данных по исследованию галектина-3, ММП-2, ММП-9 в крови больных РЖ и здоровых доноров и выявили, что концентрация галектина-3 в плазме крови статистически значимо выше у больных РЖ, чем в группе контроля, что соответствует результатам, полученным D. Cheng и соавт. [17], а также соотносится с результатами, полученными нами при анализе взаимосвязи уровней галектина-3 с проангиогенными факторами [18]. В этом исследовании было также установлено, что несмотря на имеющиеся различия, диагностические характеристики галектина-3 не



удовлетворяют критериям хорошего диагностического теста.

Сравнительный анализ сывороточных концентраций ММП-9 у больных РЖ и в контроле не выявил различий в уровнях этого маркера между обеими группами. В то же время концентрация ММП-2 у здоровых доноров была статистически значимо выше ($p < 0,05$), что соответствует данным литературы [19, 20]. Значимых корреляционных взаимосвязей между концентрациями галектина-3, ММП-2 и ММП-9 в крови обследованных больных РЖ не установлено.

Особого внимания заслуживает выявленная нами статистически значимая положительная корреляционная связь содержания галектина-3 в плазме крови с возрастом в группе контроля ($r_s = 0,51$, $p < 0,05$). Основываясь на данных отечественной и зарубежной литературы, можно предположить следующее: эта взаимосвязь обусловлена тем, что галектин-3 рассматривают как профибротическую молекулу, потенциальный маркер фиброза миокарда и печени [7, 11, 21], а с возрастом многократно возрастает риск развития хронической сердечной недостаточности и сердечно-сосудистых заболеваний. Тем не менее в группе больных РЖ корреляционной взаимосвязи исследуемых маркеров с возрастом мы не обнаружили.

Анализ полученных данных не выявил значимой взаимосвязи уровней ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови больных РЖ со степенью дифференцировки опухоли. Такой взаимосвязи не обнаружено и для галектина-3, что согласуется с данными S.E. Baldus и соавт., которые использовали иммуногистохимический метод определения маркера в опухоли [22]. Не наблюдали и взаимосвязи содержания галектина-3 в плазме крови с показателями распространенности опухоли и ее локализацией. По данным литературы, галектин-3 имеет большое значение в опухолевой прогрессии [23–25]. Отмечено, что он регулирует экспрессию ММП при РЖ, тем самым играя

ключевую роль в процессах метастазирования [26]. В нашем исследовании уровни галектина-3 и ММП-2 в крови больных РЖ не зависели от глубины инвазии опухоли, лимфогенного и гематогенного метастазирования.

Статистически значимых различий общей и безрецидивной выживаемости больных РЖ в зависимости от уровня галектина-3 в плазме крови не выявлено. Вместе с тем наиболее выраженные различия 5-летней общей выживаемости отмечены при использовании в качестве порогового уровня галектина-3 его медианы, равной 12,9 нг/мл; лучшая выживаемость зарегистрирована при условно низких уровнях маркера (50 и 43% соответственно). При этом высокий (более медианы 212 нг/мл) уровень ММП-2 в сыворотке крови больных РЖ с высокой значимостью ухудшал общую выживаемость пациентов, что согласуется с ранее опубликованными данными [16]. Кроме того, высокое содержание ММП-9 в сыворотке крови больных РЖ благоприятно влияло на прогноз заболевания, хотя и только на уровне тенденции.

Заключение

В результате проведенного сравнительного клинико-лабораторного исследования нами получены неоднозначные данные о клиническом значении галектина-3, ММП-2 и ММП-9 при РЖ, их диагностической значимости и влияния на прогноз заболевания. Для подтверждения обнаруженных нами тенденций необходимы дополнительные исследования с включением большего числа пациентов и тщательным мониторингом безрецидивной и общей выживаемости. Несмотря на публикации ряда авторов, в которых эти маркеры рассматриваются в качестве дополнительных диагностических и прогностических факторов при РЖ, мы полагаем, что рекомендовать внедрить их в клиническую практику для диагностики и оценки прогноза РЖ пока еще преждевременно. ☺

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Е.А. Короткова – выполнение и анализ результатов биохимических исследований, анализ данных литературы, написание и редактирование

текста; Е.С. Герштейн и Н.Н. Зыбина – анализ данных литературы, написание текста; Е.В. Самойлова и И.О. Горячева – выполнение и анализ результатов биохимических исследований, редактирование текста; А.П. Петросян – набор материала, анализ историй болезни, формирование базы данных, редактирование текста; О.О. Янушевич, И.С. Стилиди и Н.Е. Кушлинский – дизайн исследования, редактирование итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.



Список литературы / References

1. Аксель ЕМ. Статистика злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта. Сибирский онкологический журнал. 2017;16(3):5–11. doi: 10.21294/1814-4861-2017-3-5-11. [Axel EM. [Gastrointestinal cancer statistics]. Siberian Journal of Oncology. 2017;16(3):5–11. Russian. doi: 10.21294/1814-4861-2017-3-5-11.]
2. Niang DGM, Gaba FM, Diouf A, Hendricks J, Diallo RN, Niang MDS, Mbengue B, Dieye A. Galectin-3 as a biomarker in breast neoplasms: Mechanisms and applications in patient care. *J Leukoc Biol.* 2022;112(5):1041–1052. doi: 10.1002/JLB.5MR0822-673R.
3. Pokhare S, Sharma UC, Attwood K, Mansoor S. Clinical Significance of Galectin-3 Expression in Squamous Cell Carcinoma of Lung. *J Cancer Sci Clin Ther.* 2022;6(3):322–327. doi: 10.26502/jcsct.5079169.
4. Nowlaczyk AU, Yu LG. Galectin-3 – a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett.* 2011;313(2):123–128. doi: 10.1016/j.canlet.2011.09.003.
5. Nangia-Makker P, Hogan V, Balan V, Raz A. Chimeric galectin-3 and collagens: Biomarkers and potential therapeutic targets in fibroproliferative diseases. *J Biol Chem.* 2022;298(12):102622. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102622.
6. Ochieng J, Leite-Browning ML, Warfield P. Regulation of cellular adhesion to extracellular matrix proteins by galectin-3. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;246(3):788–791. doi: 10.1006/bbrc.1998.8708.
7. Драпкина ОМ, Деева ТА. Галектин-3 – биомаркер фиброза у пациентов с метаболическим синдромом. *Российский кардиологический журнал.* 2015;(9):96–102. doi: 10.15829/1560-4071-2015-9-96-102. [Drapkina OM, Deeva TA. [Galectin-3 – biomarker of fibrosis in patients with metabolic syndrome]. *Russian Journal of Cardiology.* 2015;(9):96–102. Russian. doi: 10.15829/1560-4071-2015-9-96-102.]
8. Драпкина ОМ, Шепель РН, Деева ТА. Прогностическое значение определения уровня галектина-3 у пациентов с метаболическим синдромом и хронической сердечной недостаточностью. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017;16(6):82–86. doi: 10.15829/1728-8800-2017-6-82-86. [Drapkina OM, Shepel RN, Deeva TA. [Prognostic significance of galectin-3 level assessment in metabolic syndrome patients with heart failure]. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2017;16(6):82–86. Russian. doi: 10.15829/1728-8800-2017-6-82-86.]
9. Pang Y, Maxwell E, Sindrewicz-Goral P, Shapanis A, Li S, Morgan M, Yu LG. Galectin-3 Is a Natural Binding Ligand of MCAM (CD146, MUC18) in Melanoma Cells and Their Interaction Promotes Melanoma Progression. *Biomolecules.* 2022;12(10):1451. doi: 10.3390/biom12101451.
10. Nangia-Makker P, Raz T, Tait L, Hogan V, Fridman R, Raz A. Galectin-3 cleavage: a novel surrogate marker for matrix metalloproteinase activity in growing breast cancers. *Cancer Res.* 2007;67(24):11760–11768. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-3233.
11. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Poirier F, Russo FP, Iredale JP, Haslett C, Simpson KJ, Sethi T. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(13):5060–5065. doi: 10.1073/pnas.0511167103.
12. 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. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659. [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. Russian. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659.]
13. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
14. Argüeso P, Panjwani N. Focus on molecules: galectin-3. *Exp Eye Res.* 2011;92(1):2–3. doi: 10.1016/j.exer.2010.11.009.
15. Tao L, Jin L, Dechun L, Hongqiang Y, Changhua K, Guijun L. Galectin-3 Expression in Colorectal Cancer and its Correlation with Clinical Pathological Characteristics and Prognosis. *Open Med (Wars).* 2017;12:226–230. doi: 10.1515/med-2017-0032.
16. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, Yuan H. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med.* 2018;41(2):599–614. doi: 10.3892/ijmm.2017.3311.
17. Cheng D, Liang B, Li Y. Serum galectin-3 as a potential marker for gastric cancer. *Med Sci Monit.* 2015;21:755–760. doi: 10.12659/MSM.892386.
18. Ковалева ОВ, Зыбина НН, Грачев АН, Чанг ВЛ, Огнерубов НА, Стилиди ИС, Кушлинский НЕ. Галектин-3, гаптоглобин и проангиогенные факторы при раке желудка. *Молекулярная медицина.* 2022;(4):28–34. doi: 10.29296/24999490-2022-04-05. [Kovaleva OV, Zybina NN, Gratchev AN, Chang VL, Ognerubov NA, Stilidi IS, Kushlinskii NE. [Galectin-3, haptoglobin and proangiogenic factors in gastric cancer]. *Molecular Medicine.* 2022;20(4):28–34. Russian. doi: 10.29296/24999490-2022-04-05.]
19. Mroczko B, Lukaszewicz-Zajac M, Gryko M, Kędra B, Szmitkowski M. Clinical significance of serum levels of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and its tissue inhibitor (TIMP-2) in gastric cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(1):125–131. doi: 10.5603/fhc.2011.0018.
20. Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Guzińska-Ustymowicz K, Pryczynicz A, Gryko M, Kemona A, Kędra B, Szmitkowski M. Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and their tissue inhibitor 2 (TIMP-2) in gastric cancer patients. *Adv Med Sci.* 2013;58(2):235–243. doi: 10.2478/ams-2013-0018.
21. Cheng W, Fuernau G, Desch S, Freund A, Feistritzer HJ, Pöss J, Besler C, Lurz P, Büttner P, Thiele H. Circulating Galectin-3 in Patients with Cardiogenic Shock Complicating Acute Myocardial Infarction Treated with Mild Hypothermia: A Biomarker Sub-Study of the SHOCK-COOL Trial. *J Clin Med.* 2022;11(23):7168. doi: 10.3390/jcm11237168.
22. Baldus SE, Zirbes TK, Weingarten M, Fromm S, Glossmann J, Hanisch FG, Mönig SP, Schröder W, Flucke U, Thiele J, Hölscher AH, Dienes HP. Increased galectin-3 expression in gastric cancer: correlations with histopathological subtypes, galactosylated antigens and tumor cell proliferation. *Tumour Biol.* 2000;21(5):258–266. doi: 10.1159/000030131.
23. Kim SJ, Shin JY, Cheong TC, Choi IJ, Lee YS, Park SH, Chun KH. Galectin-3 germline variant at position 191 enhances nuclear accumulation and activation of β -catenin in gastric cancer. *Clin Exp Metastasis.* 2011;28(8):743–750. doi: 10.1007/s10585-011-9406-8.
24. Manivannan P, Siddharaju N, Jatiya L, Verma SK. Role of pro-angiogenic marker galectin-3 in follicular neoplasms of thyroid. *Indian J Biochem Biophys.* 2012;49(5):392–394.
25. Papale F, Cafiero G, Grimaldi A, Marino G, Rosso F, Mian C, Barollo S, Pennelli G, Sorrenti S, De Antoni E, Barbarisi A. Galectin-3 expression in thyroid fine needle cytology (t-FNAC) uncertain cases: validation of molecular markers and technology innovation. *J Cell Physiol.* 2013;228(5):968–974. doi: 10.1002/jcp.24242.
26. Kim SJ, Shin JY, Lee KD, Bae YK, Choi IJ, Park SH, Chun KH. Galectin-3 facilitates cell motility in gastric cancer by up-regulating protease-activated receptor-1 (PAR-1) and matrix metalloproteinase-1 (MMP-1). *PLoS One.* 2011;6(9):e25103. doi: 10.1371/journal.pone.0025103.



Galectin-3 and matrix metalloproteinases 2 and 9 in peripheral blood of gastric cancer patients

E.A. Korotkova¹ • E.S. Gershtein^{1,2} • E.V. Samoilova¹ •
I.O. Goriacheva¹ • A.P. Petrosyan¹ • N.N. Zybina³ •
O.O. Yanushevich² • I.S. Stilidi¹ • N.E. Kushlinskii^{1,2}

Background: High incidence of gastric cancer (GC), its aggressive clinical course, rapid tumor dissemination, low sensitivity to chemotherapy and lack of reliable laboratory diagnostic criteria urgently require a search for the most informative markers associated with key biologic properties of the tumors.

Aim: Comparative analysis of galectin-3, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 levels in peripheral blood of GC patients and healthy donors, assessment of association of these markers with clinical morphological characteristics of the disease, and prognosis of overall and relapse-free survival.

Materials and methods: Sixty (60) primary treatment-naïve GC patients (38 men, 22 women) aged 29 to 81 years and 90 healthy donors compatible with their age and sex were included into the study. Galectin-3 was measured in EDTA plasma, MMP-2 and MMP-9 in serum with standard direct enzyme immunoassay kits "Human MMP-2 (total)", "Human MMP-9 (total)", "Human Galectin-3" (R&D Systems, USA).

Results: Plasma galectin-3 concentration in the GC patients was significantly higher than in the healthy controls (median 12.9 and 10.6 ng/ml, respectively; $p < 0.0001$). No difference in serum MMP-9 levels between GC patients and control subjects were found, while MMP-2 level in the control group was significantly higher, than in the GC patients ($p = 0.039$). No association between galectin-3, MMP-2, and MMP-9 blood levels in the GC patients could be identified. In contrast to GC patients, there was a positive correlation of plasma galectin-3 with age in the control group ($r_s = 0.51$, $p < 0.005$). No associations between the biomarkers levels in blood and clinical and

morphological characteristics of GC were established, except MMP-9 being higher at T_{4a} invasion depth as compared to the earlier T₂ level. Marked differences in the overall survival depending on plasma galectin-3 levels were found, with the cut-off level of 12.9 ng/ml: the 5-year overall survival in the patients with low galectin-3 was better, than in those with its higher level (50 and 43%, respectively; however, the difference was non-significant, $p > 0.1$). Both overall and relapse-free survival of the GC patients was higher in those with low (< 212 ng/ml) serum MMP-2: the 5-year overall survival in this group comprised 60% versus 23% in the patients with higher MMP-2 ($p = 0.018$). The difference in relapse-free survival was non-significant. Serum MMP-9 levels had no significant impact on the survival of GC patients.

Conclusion: The ambiguous data on the clinical role of galectin-3, MMP-2, MMP-9 in GC obtained in this study indicate the necessity of further investigation of their possible utility for the diagnostics and prognosis of treatment results.

Key words: gastric cancer, galectin-3, matrix metalloproteinase 2, matrix metalloproteinase 9, serum, plasma

For citation: Korotkova EA, Gershtein ES, Samoilova EV, Goriacheva IO, Petrosyan AP, Zybina NN, Yanushevich OO, Stilidi IS, Kushlinskii NE. Blood galectin-3 and matrix metalloproteinases 2 and 9 in gastric cancer patients. *Almanac of Clinical Medicine*. 2023;51(1):23–31. doi: 10.18786/2072-0505-2023-51-001.

Received 21 December 2022; revised 19 January 2023; accepted 27 January 2023; published online 22 February 2023

Ekaterina A. Korotkova – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2509-5232>

✉ Kashirskoe shosse 23, Moscow, 115478, Russian Federation.

E-mail: katinka-kor@yandex.ru

Elena S. Gershtein – Doctor of Biol. Sci., Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; Professor, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Additional Professional Education²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>.

E-mail: esgershtein@gmail.com

Ekaterina V. Samoilova – Biologist, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3178-8331>. E-mail: mediket@mail.ru

Irina O. Goriacheva – Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Laboratory of Clinical Biochemistry¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-291X>. E-mail: irina.goriacheva@gmail.com

Aram P. Petrosyan – Oncologist, Surgical Department No. 7¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2149-4236>. E-mail: aramsurgeon@mail.ru

Natalia N. Zybina – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Department of Laboratory Diagnostics²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5422-2878>. E-mail: zybinan@inbox.ru

Oleg O. Yanushevich – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Rector²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>. E-mail: nauch.ot@mail.ru

Ivan S. Stilidi – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Director¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>. E-mail: info@ronc.ru

Nikolay E. Kushlinskii – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Head of Laboratory of Clinical Biochemistry¹; Head of Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Additional Professional Education²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>. E-mail: biochimia@yandex.ru

Funding

The study was performed as a part of the State Task for the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

E.A. Korotkova, biochemical studies, analysis of the literature, text writing and editing; E.S. Gershtein and N.N. Zybina, analysis of the literature, text writing; E.V. Samoilova and I.O. Goriacheva, biochemical studies, text editing; A.P. Petrosyan, data collection, medical file analysis, preparation of the database, text editing; O.O. Yanushevich, I.S. Stilidi, and N.E. Kushlinskii, study design, editing of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; Kashirskoe shosse 23, Moscow, 115478, Russian Federation

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; ul. Delegatskaya 20/1, Moscow, 127473, Russian Federation

³The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine; ul. Akademika Lebedeva 4–2, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation