коронарных нарушений, что особенно актуально для пациентов в госпитальных условиях, имеющих большое количество факторов риска развития венозных осложнений в связи с длительной иммобилизацией конечности.

Комплексное изучение генетических маркеров, так или иначе связанных с развитием эндотелиальной дисфункции, в перспективе позволит проводить досимптоматическую диагностику, что будет способствовать расширению спектра профилактических, терапевтических и диагностических мер по лечению и предупреждению тромбозов на фоне введения НМГ у больных травматолого-ортопедического профиля.

Заключение. У больных травматолого-ортопедического профиля на фоне введения НМГ наблюдается рост концентраций ФРЭС в сыворотке крови, что дает основание считать его лабораторным тест-критерием активности ангиогенеза у данных больных.

Концентрации оксистата, эндотелина-1 и ФРЭС сыворотки крови дают дополнительную информацию о состоянии внутрисосудистого воспаления на фоне введения НМГ больным травматолого-ортопедического профиля.

Необходимо дальнейшее изучение влияний введения НМГ на сосудистую стенку, с включением результатов генетического полиморфизма и изменений концентраций ФРЭС в сыворотке крови.

Конфликт интересов отсутствует.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — И.С. Воробьева, В.В. Никитина, И.Л. Иваненко, Г.П. Гладилин; получение и обработка данных — И.С. Воробьева; анализ и интерпретация результатов, написание статьи — И.С. Воробьева, В.В. Никитина; утверждение рукописи для публикации — Г.П. Гладилин.

References (Литература)

1. Guide prevention of complications in traumatology and orthopedics: application 1/632012. URL: CyberLeninka.ru-…profilaktiki-venoznyh… Russian (Руководство профилактики осложнений в травматологии и ортопедии: приложение 1/632012. URL: CyberLeninka.ru-…profilaktiki-venoznyh…).
2. Kremleva YM, Garganchuk EN, Vorob'eva NA. Spatial trombodinamika as a method of optimization of anticoagulation therapy in carotid endoarterektomii. Laboratory 2014; (2): 32. Russian (Кремлева Ю.М., Гарганчук Е.Н., Воробьева Н.А. Пространственная тромбодинамика как метод оптимизации антикоагулянтной терапии при операции каротидной эндоартерэктомии. Лаборатория 2014; (2): 32).
3. Jain RK, Duda DG, Clark JW, Loeffler JS. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer. Natl Clin Pract Oncol 2006; 3 (1): 24–40.
4. Ryden L, Stendahl M, Jonsson H, et al. Tumor-specific VEGF-A and VEGFR2 in postmenopausal breast cancer patients with long-term follow-up: Implication of a link between VEGF pathway and tamoxifen response. Breast Cancer Res Treat 2005; 89 (2): 135–43.
5. Baranov VS, ed. The genetic passport is the basis of individual and predictive medicine. St. Petersburg: Publisher H-L, 2009; 528 p. Russian (Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В.С. Баранова. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009; 528 с.).
6. Tsiatis AC, Norris-Kirby A, Rich RG, et al. Comparison of Sanger Sequencing, Pyrosequencing, and Melting Curve Analysis for the Detection of KRAS Mutations. J Mol Diagn 2010 July; 12 (4): 425–432.

УДК 616–01/09:616–006:611.7 Оригинальная статья

СОДЕРЖАНИЕ БИОМАРКЕРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ

Г.В. Коршунов *— ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук, профессор;* ***Н.Н. Павленко*** *— ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, ведущий научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, доктор медицинских наук;* ***Д.М. Пучиньян*** *— ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук, профессор;* ***С. Г. Шахмартова*** *— врач отделения клинической лабораторной диагностики, кандидат медицинских наук.*

BIOMARKERS CONTENT IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH OSSEOUS NEOFORMATIONS

G.V. Korshunov *— Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, Senior Research Assistant, Professor, Doctor of Medical Science;* ***N.N. Pavlenko*** *— Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Innovative Projects in Traumatology and Orthopedics, Chief Research Assistant, Doctor of Medical Science;* ***D.M. Puchinyan*** *— Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, Chief Research Assistant, Professor, Doctor of Medical Science;* ***S. G. Shakhmartova*** *— Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Candidate of Medical Science.*

Дата поступления — 29.08.2016 г. Дата принятия в печать — 07.09.2016 г.

Коршунов Г.В., Павленко Н.Н., Пучиньян Д.М., Шахмартова С. Г. **Содержание биомаркеров в сыворотке крови больных с новообразованиями костей. Саратовский научно-медицинский журнал 2016; 12 (3): 358–361.**

Цель: оценить роль отдельных биомаркеров в дифференциальной диагностике опухолевых заболеваниях костной системы. *Материал и методы.* Обследовано 160 пациентов с доброкачественными (115) и злокачественными (45) новообразованиями костной ткани. Определяли уровни неоптерина, фактора некроза опухоли-α, интерлейкина-6, фактора роста сосудистого эндотелия, молекул адгезии сосудистого эндотелия методом иммуноферментного твердофазного анализа и сравнивали с их содержанием у 20 практически здоровых лиц. Верификацию опухоли проводили с помощью рентгенографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии, гистоморфологического исследования опухоли. *Результаты.* У пациентов с добро-

качественными и злокачественными новообразованиями костной ткани повышены уровни неоптерина, фактора некроза опухоли-α, интерлейкина-6, причем более значимо при злокачественном процессе. Уровень молекул адгезии сосудистого эндотелия у больных обеих групп снижен, а фактора роста сосудистого эндотелия соответствует контрольным данным; по этим показателям различий между группами пациентов не выявлено. Проведена оценка диагностической ценности указанных цитокинов: положительные результаты исследования фактора некроза опухоли и неоптерина являются основой для окончательного диагностического решения; а интерлейкина-6 — умеренным основанием для диагностического решения. *Вывод.* Повышенные уровни фактора некроза опухоли-α и неоптерина позволяют обосновывать дифференцировку между доброкачественными и злокачественными опухолями костной ткани, способствуя повышению качества диагностики.

Ключевые слова: опухоли костной ткани, дифференциальная диагностика, неоптерин, фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6.

***Korshunov GV, Pavlenko NN, Puchinyan DM, Shakhmartova SG.* Biomarkers content in blood serum of patients with osseous neoformations. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2016; 12 (3): 358–361.**

The aim of the study was the estimation of several biomarkers in differentiation diagnostics of tumour diseases in osseous system. *Material and methods.* 160 patients with benign (115) and malignant (45) osseous neoformations were investigated. Neopterine, tumour necrosis factor (TNF-α), interleukin-6, adhesion molecules of vessel endothelium (sVCAM-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels were identified by ELISA solid-phase test and compared with the levels of 20 apparently healthy individuals. Tumor verification was fulfilled by X-ray, CT, MRI and histomorphological essay. *Results.* Both benign and malignant osseous tumour patients showed increased levels of neopterine, TNF-α and interleukin-6 being more significant with malignant processes. The level of sVCAM was decreased in patients of both groups and VEGF level corresponded to the control, these indexes did not show any differences between the groups. The assessment of diagnostic value of these cytokines indicates that positive results for TNF and neopterine give the ground for the final diagnostic decision while the same results for interleukin-6 give moderate basement for diagnostic decision. *Conclusion.* Increased TNF-α and neopterine levels allow substantiating the difference between benign and malignant osseous tumours and improving diagnostic quality.

Key words: tumors of bone, differential diagnosis, neopterine, tumour necrosis factor-α, interleukin-6.

Введение. Новообразования костей составляют от 1 до 2% всех опухолей человека. Диагностика, особенно дифференциальная, новообразований костей достаточно сложна [1, 2]. Лабораторные методы исследования биологических жидкостей не позволяют диагностировать наличие костных опухолей в связи с отсутствием специфичных для них изменений показателей, однако по совокупности полученной информации могут способствовать уточнению дифференциальной диагностики между опухолевыми и неопухолевыми заболеваниями костей, между доброкачественным и злокачественным неопластическим процессом. В целях получения дополнительной информации об особенностях онкологического заболевания активно изучаются различные биологические маркеры, участвующие в воспалительных и противовоспалительных реакциях организма, процессах пролиферации, клеточной дифференцировки, цитотоксичности клеток, в межклеточных взаимодействиях и в поддержании гомеостаза организма, а также в развитии патологических процессов, включая неопластические. Однако о диагностической и прогностической значимости концентрации цитокинов в сыворотке периферической крови онкологических больных единого мнения не существует [3–5].

Цель: оценить роль отдельных биомаркеров в дифференциальной диагностике опухолевых заболеваниях костной системы.

Материал и методы. Обследованы 160 больных (в возрасте от 24 до 72 лет) с доброкачественными (гигантоклеточная опухоль, костная киста, фиброзная дисплазия, хондрома, костно-хрящевой экзостоз) и злокачественными (метастатическое поражение костей, солитарная миелома, остеогенная саркома, хондросаркома) опухолями костной системы. Верификацию злокачественных и доброкачественных поражений костей проводили с использованием клинических, лучевых (рентгенографических, магнитно-резонансных и компьютерно-томографических) способов обследования, гистоморфологических и биохимических методов исследований с учетом последней гистологической классификации опухолей костей, принятой ВОЗ в Лионе (2002). Контрольную группу составили 20 практически здоровых людей в возрасте от 40 до 60 лет.

В сыворотке крови больных методом иммуноферментного твердофазного анализа определяли уровни неоптерина (NP, нг/мл), фактора некроза опухоли-α (TNF-α, пг/мл), интерлейкина-6 (IL-6, пг/мл), фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF-A, пг/мл), молекул адгезии сосудистого эндотелия (sVCAM-1, нг/мл) на ридере «Anthos 2020» (Австрия) с помощью наборов «Bender MedSystems» (Австрия). Верификация новообразований опорно-двигательной системы проведена с использованием клинических, лучевых (рентгенографического, компьютерно-томографического и магнитно-резонансного) способов обследования, гистоморфологических методов исследований. Контрольную группу составили 20 практически здоровых людей в возрасте от 40 до 60 лет.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакетов компьютерных программ Statistica 10.0 (StatSoftInc.). После проверки распределения вариационных рядов на нормальность тестом Шапиро — Уилка наличие различий между рядами выясняли параметрическим методом описательной статистики, при этом определяли величину средней арифметической (M), ошибку средней (±m) и t-критерий Стьюдента. Нулевую гипотезу отвергали при значении достоверности $p<0,05$. Кроме того, оценивали диагностическую ценность лабораторных тестов [6].

Результаты. Содержание неоптерина в сыворотке крови больных при доброкачественных новообразованиях костной системы в 2,6 раза ($p_1<0,001$), а при злокачественных в 5,2 раза выше ($p_1<0,0001$), чем у практически здоровых лиц. Уровень фактора некроза опухоли-α при доброкачественных новообразованиях в 18 раз ($p_1<0,001$) выше его количества в контрольной группе, а при злокачественных в 28 раз ($p_1<0,0001$). Содержание IL-6 при опухолевых процессах также превышает его концентрацию у здоровых лиц: при доброкачественных опухолях в

Ответственный автор — Коршунов Геннадий Васильевич
Тел.: 89172195467
E-mail: gkors@mail.ru

Таблица 1

Содержание биомаркеров в сыворотке крови у больных с новообразованиями скелета

Биомаркеры	Контроль (n=20)	Доброкачественные новообразования (n=115)	Злокачественные новообразования (n=45)
NP, нг/мл	3,8±0,9	9,8±0,65 p_1<0,001	19,7±0,85 p_1<0,0001 p_2<0,0001
TNF-α, пг/мл	1,5±0,6	27,5±1,2 p_1<0,001	41,8±1,1 p_1<0,0001 p_2<0,0001
IL-6, пг/мл	3,6±0,4	24,3±2,1 p_1<0,0001	12,2±2,4 p_1<0,0001 p_2<0,0001
VEGF-A, пг/мл	25,4±0,8	24,9±0,5 p_1=0,6	23,3±0,9 p_1>0,1 p_2=0,5
sVCAM-1, нг/мл	1018±15,2	694,0±13,4 p_1<0,001	718±15,6 p_1<0,001 p_2=0,5

Примечание: p_1 — достоверность различий по отношению к контролю; p_2 — достоверность различий между данными, полученными при доброкачественном и злокачественном процессах.

6,8 раза (p_1<0,0001), при злокачественных в 3,4 раза (p_1<0,0001) (табл. 1).

Вместе с тем между типами новообразований не обнаружено различий в содержании фактора роста сосудистого эндотелия (p_2=0,5) и молекул сосудистой адгезии (p_2=0,5). Следует отметить, что по сравнению с контрольной группой содержание sVCAM-1 у больных с новообразованиями было значимо сниженным (см. табл. 1).

Обсуждение. Повышенные уровни неоптерина связаны с заболеваниями, которые стимулируют клеточный иммунный ответ, поэтому данный показатель используется для неспецифического лабораторного мониторинга за прогрессированием и/или распространением рака [7]. Увеличенные концентрации неоптерина, выявленные нами при доброкачественных и злокачественных опухолях костей, свидетельствуют о повышенной активности клеточного иммунитета у данных групп пациентов; причем более выражен клеточный иммунный ответ у больных со злокачественными новообразованиями скелета. Ранее нами было показано, что у пациентов с доброкачественным опухолевым процессом уровень неоптерина преимущественно ниже 7,1 нг/мл, у больных со злокачественными опухолями выше 7,1 нг/мл. При диагностическом пороге теста 7,1 нг/мл его клиническая чувствительность составляет 91,3%, клиническая специфичность 72,9%, диагностическая точность 79,0% [8].

Высокие концентрации TNF-α выявляются у больных при генерализованном злокачественном процессе и являются проявлением защитной реакции иммунной системы [5, 9]. По результатам нашего исследования существенное повышение содержания этого цитокина наблюдается у больных как с доброкачественными, так и со злокачественными новообразованиями костей.

Более выраженный ответ со стороны моноцитарно-макрофагальной системы организма отмечен у пациентов со злокачественными новообразованиями костной ткани. Показано, что у пациентов с доброкачественным опухолевым процессом уровень TNF-α имел преимущественно значения показателя менее 31,0 пг/мл, у больных со злокачественными опухолями — выше 31,0 пг/мл. При диагностическом пороге теста 31 пг/мл его клиническая чувствительность составила 87,5%, клиническая специфичность 96,3%, диагностическая эффективность теста 94,3% [8].

Показано, что медиана показателя IL-6 в сыворотке крови практически здоровых людей существенно значимо ниже, чем у больных саркомами и доброкачественными новообразованиями костей [4, 5, 9]. Результаты наших исследований соответствуют приведенным данным. Так, установлено, что при доброкачественном опухолевом процессе уровень IL-6 менее 15,3 пг/мл, при злокачественном — 15,3 пг/мл и выше. Диагностическая чувствительность данного теста составила 85,7%, диагностическая специфичность 75,0%, диагностическая эффективность 77,1%. Диагностический порог составил 15,3 пг/мл [8].

Актуально исследование одного из биомаркеров эндотелиальной дисфункции — сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF-A) — белка, участвующего в каскаде воспалительных реакций, прокоагулянтной активности, отвечающего за пролиферацию, миграцию и дифференциацию эндотелиальных клеток, повышение сосудистой проницаемости. Показано, что уровень VEGF-A может служить важным и достоверным маркером в оценке риска повторных рецидивов при различных новообразованиях [10]. В наших наблюдениях содержание VEGF-A не отличалось при новообразованиях скелета от его величин у здоровых людей.

Интерес представляют результаты, полученные при исследовании содержания молекул адгезии эндотелия сосудов (sVCAM-1). У пациентов с новообразованиями костей среднее содержание sVCAM-1 в сыворотке крови достоверно выше, чем у практически здоровых людей. Однако существенных различий между доброкачественными и злокачественными опухолями не обнаружено [11]. Нами также не отмечено различия в содержании указанного маркера при доброкачественных и злокачественных новообразованиях костной системы. Однако содержание sVCAM-1 было ниже контрольных цифр у пациентов как с доброкачественными, так и со злокачественными опухолями костей.

Учитывая, что только по трем показателям — неоптерину, фактору некроза опухоли и интерлейкину-6 — выявлены достоверные различия в их содержании у пациентов с доброкачественными и

Таблица 2

Критерии оценки диагностической ценности лабораторного теста [11]

Критерии	Np	TNF-α	IL-6
Клиническая чувствительность, %	91,3	87,5	85,7
Клиническая специфичность, %	72,9	96,3	75,0
Предсказательная ценность положительного результата, %	56,9	97,5	86,1
Предсказательная ценность отрицательного результата, %	73,0	95,6	93,5
Диагностическая эффективность теста, %	79	94,3	77
Отношение правдоподобия положительного результата теста	19	17,8	8,1
Отношение правдоподобия отрицательного результата теста	0,59	0,12	0,46

злокачественными опухолями скелета, в отношении этих биомаркеров была проведена оценка диагностической ценности (табл. 2).

Интерпретация результатов вычисления отношений правдоподобия позволяет судить о том, что положительные результаты исследования фактора некроза опухоли и неоптерина являются основой для окончательного диагностического решения; а интерлейкина-6 — умеренным основанием для диагностического решения. Отрицательные результаты только для TNF-α дают умеренные основания для диагностического решения, в то время как интерлейкин-6 и неоптерин почти не изменяют вероятность заболевания.

Вывод. Повышенные уровни фактора некроза опухоли-α и неоптерина позволяют обосновывать дифференцировку между доброкачественными и злокачественными опухолями костной ткани, способствуя повышению качества диагностики.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — Г.В. Коршунов, Н.Н. Павленко; получение данных — Н.Н. Павленко, С. Г. Шахмартова; анализ данных — Г.В. Коршунов, Н.Н. Павленко, Д.М. Пучиньян; интерпретация результатов, написание статьи — Г.В. Коршунов, Д.М. Пучиньян; утверждение рукописи для печати — Г.В. Коршунов.

References (Литература)

1. Bulychyova IV, Solov'yov YuN, Kushlinsky NE. Molecular markers in osseous tumours diagnostics. Bone and soft tissue sarcomas, skin tumours 2013; 5 (3): 73–78. Russian (Булычева И.В., Соловьев Ю.Н., Кушлинский Н.Е. Молекулярные маркеры в диагностике опухолей костей. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2013; 5 (3): 73–78).

2. Nikolaenko AN. Differential diagnostics of bone tumours: PhD abstract. Moscow, 2014; 24 p. Russian (Николаенко А.Н. Оптимизация дифференциальной диагностики опухолей костей: автореф. дис. … канд. мед. наук. М., 2014; 24 с.).

3. Kuznik BI. Cellular and molecular mechanisms of hemostasis system regulation in pathology and norm. Chita: Ekspress-izdatel'stvo, 2010; 828 p. Russian (Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010; 828 с.).

4. Tarasova TA. Interlekin-6 and its receptor in blood serum of osseous tumour and tumour-like lesions: PhD abstract. Moscow, 2010; 29 p. Russian (Тарасова Т.А. Интерлейкин-6 и его рецептор в сыворотке крови больных опухолями и опухолеподобными поражениями костей: автореф. дис. … канд. биол. наук. М., 2010; 29 с.).

5. Aydin Y, Kaplan I, Bilen Y, et al. Plasma levels of IL-6 and TNF-α in patients with esophageal cancer. Turk J Med Sci 2012; 42 (5): 762–767.

6. Men'shikov VV, Pervushin YuV. Quality assurance and control in clinical laboratory essays. In: Russian Clinical Laboratory Diagnostics: National guidance in 2 vol. Moscow: GEOTAR-Media, 2012; vol. 1, p. 64–66. Russian (Меньшиков В.В., Первушин Ю.В. Обеспечение и контроль качества клинических лабораторных исследований. В кн.: Клиническая лабораторная диагностика: нац. руководство: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012; т. 1, с. 64–66).

7. Pavlenko NN, Korshunov GV, Popova TN, et al. Metastatic lesions of bone tissue. Siberian Journal of Oncology 2011; 10 (4): 46–49. Russian (Павленко Н.Н., Коршунов Г.В., Попова Т.Н. и др. Метастатическое поражение костной ткани. Сибирский онкологический журнал 2011; 10 (4): 46–49).

8. Korshunov GV, Pavlenko NN, Puchin'yan DM, et al. Surgical characteristics of differential diagnostics methods in benign and malignant osseous neoformations. Russian Clinical Laboratory Diagnostics 2014; 59 (6): 11–13. Russian (Коршунов Г.В., Павленко Н.Н., Пучиньян Д.М. и др. Операционные характеристики способов дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований костной системы. Клиническая лабораторная диагностика 2014; 59 (6): 11–13).

9. Sacu D, Bildik A. Levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor-α in serum from fibrosarcoma induced rats. Kafkas Univ Vet Med J 2009; 15: 681–686.

10. Chekhonin VP, Shein SA, Korchagina AA, Gurina OI. VEGF role in neoplastic angiogenesis development. Vestnik of the Russian Academy of Medical Sciences 2012; 67 (2): 23–33. Russian (Чехонин В.П., Шеин С. А., Корчагина А.А., Гурина О.И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза. Вестник РАМН 2012; 67 (2): 23–33).

11. Babkina IV, Russo EYu, Solovyov YuN, et al. The content of sVCAM-1 in blood serum of osseous neoformation patients. Bone and soft tissue sarcomas, skin tumours 2012; 4 (1): 52–54. Russian (Бабкина И.В., Руссо Е.Ю., Соловьев Ю.Н. и др. Содержание растворимой формы молекулы адгезии эндотелия сосудов 1 типа (sVCAM-1) в сыворотке крови больных новообразованиями костей. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2012; 4 (1): 52–54).