

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯИЧНИКОВ

**И.В. Терешкина¹, Д.Н. Кушлинский², Н.В. Левкина¹,
К.П. Лактионов¹, Л.В. Адамян²**

¹ ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

² Московский областной НИИ акушерства и гинекологии

В обзоре представлены современные данные литературы о роли MMP и TIMP при новообразованиях яичников, их связи с пролиферативной, инвазивной активностью, неоангиогенезом, способностью к метастазированию и прогнозом заболевания, а также возможности таргетной анти-MMP терапии.

Ключевые слова: MMP, TIMP, рак яичников.

MATRIX METALLOPROTEINASES IN OVARIAN TUMORS

**I.V. Tershkina¹, D.N. Koushlinский², N.V. Levkina¹,
K.P. Laktionov¹, L.V. Adamyan²**

¹ Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Centre» of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Koulakov» of the Ministry of Healthcare and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

The survey presents the literature overview on modern data regarding the role of MMP and TIMP in ovarian tumor, their connection to proliferative, invasive activity, neoangiogenesis, ability to metastasize and the prognosis of the disease, and also the possibilities of the targeted anti — MMP therapy.

Keywords: MMP, TIMP, ovarian cancer.

Одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе инвазии и метастазирования опухолей, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеазами [1]. Известно, что во все этапы прогрессирования опухолевого процесса вовлечены MMP — семейство, состоящее из более 20 секретируемых или связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз, способных к деградации практически всех компонентов ВКМ [2]. В зависимости от структурно-функциональных особенностей и субстратной специфичности MMP делят на несколько подсемейств. Основные подсемейства MMP — коллагеназы широкого спектра действия (например, MMP-1, 8, 13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (MMP-2 и 9), стромелизины (например, MMP-3 и 10), матрилизины (MMP-7, MMP-26) и MMP мембранного типа [3].

Активация MMP в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (TIMP), образуя прочные комплексы как с активными формами MMP, так и с их секретируемыми проферментами, регулируя их активность [4]. Семейство TIMP состоит из четырех структурно родственных белков: TIMP-1, 2 и 4 секретируются в растворимой форме, а TIMP-3 связан с ВКМ. По своей структуре TIMP высоко специфичны к активному связывающему участку MMP (по принципу «ключ-замок») и ингибируют весь спектр MMP.

Роль MMP в прогрессии и метастазировании опухолей впервые определена [5], когда был обнаружен протеолиз коллагена IV типа в процессе инвазии и метастазирования меланомы кожи и стало ясно, что он обусловлен главным образом протеолитической активностью MMP-2 и/или MMP-9. Первоначально предполагали, что опухолевые

клетки самостоятельно вырабатывают ММР, а стромальные клетки индуцируют секрецию ММР опухолями. Позднее была сформулирована концепция о том, что стромальные клетки также могут сами экспрессировать ММР. Анализ методом гибридизацией *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют ММР даже чаще, чем опухолевые [6, 7]. Выделение многих ММР клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки, является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако существуют исключения, например: матрилизин (ММР-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли, в случае ММР-2 известно, что ее мРНК продуцируется преимущественно стромальными клетками, но сам фермент секретируется и активируется на границе опухолевой и нормальной ткани [8].

Все члены семейства ММР способны гидролизовать основные белковые компоненты ВКМ, включая протеогликаны, ламинин, фибронектин, желатин, коллаген и другие. Кроме того, функцией ММР может быть активация других ММР, усиливающая процесс дегградации ВКМ, в результате которого опухолевая клетка может свободно мигрировать в строму, интравазировать в кровеносное русло и экстравазировать, основывая новый метастатический очаг.

В эксперименте доказана корреляционная взаимосвязь между повышением экспрессии ММР опухолевыми и/или стромальными клетками с прогрессией, метастазированием и неоангиогенезом [9, 10]. В ретроспективных клинических исследованиях отмечена повышенная экспрессия различных ММР в первичном опухолевом очаге и/или метастазах, ассоциированная со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с неблагоприятным прогнозом и низкой выживаемостью больных различными злокачественными новообразованиями [8, 9, 10, 11, 12]. Повышение уровня ММР в сыворотке/плазме крови онкологических больных коррелирует с метастатическим процессом и может рассматриваться как фактор плохого прогноза [13, 14]. В то же время известно, что растворимые ММР в периферической крови находятся, в основном, в форме профермента или в комплексе с природными ингибиторами, такими как TIMP или б2-макроглобулин [15], поэтому повышенная экспрессия ММР часто сопровожда-

ется увеличением экспрессии соответствующих TIMP [16], а функциональное значение циркулирующих в крови ММР в прогрессии опухоли до конца не ясно.

Клиническое значение ММР и TIMP при новообразованиях яичников

Желатиназы/IV Коллагеназы: ММР-2 (желатиназа А) и ММР-9 (желатиназа В). ММР-2 и ММР-9 — протеазы, гидролизующие коллаген IV типа — основной компонент базальной мембраны эпителиальных опухолей, но они также разрушают другие существенные компоненты ВКМ и обладают желатинолитической активностью. Регуляция активности коллагеназ считается сложным и до конца не изученным процессом, важную роль в котором играют TIMP.

В экспериментальных исследованиях продемонстрирована важная роль ММР-2 и ММР-9 в формировании инвазивного потенциала клеток РЯ [17], причем индукция ММР — один из ключевых механизмов проинвазивных эффектов ЭФР [18], и β -ТФР [19]. Показано также, что эти протеазы находятся в комплексном взаимодействии с ключевым активатором ангиогенеза — фактором роста эндотелия сосудов (VEGF): с одной стороны, коллагеназы индуцируют секрецию VEGF опухолевыми клетками, что способствует образованию асцита [20, 21], а с другой стороны, секретируемый опухолью VEGF регулирует экспрессию коллагеназ в строме, влияя на инвазивную способность опухоли [22, 23]. Показано, что активность ММР-2 и ММР-9 в культивируемых клетках РЯ увеличивается под действием гормонов стресса (катехоламинов), при этом в два-три раза возрастает инвазивность опухолевых клеток в тестах *in vitro* [24].

Показано, что система ММР/TIMP, и в первую очередь коллагеназы, играет ключевую роль в процессах ремоделирования ВКМ, связанных с развитием фолликула в нормальных яичниках [25]. ММР-2 и ММР-9, а также TIMP-1, 2 и 3 локализируются в оболочке развивающихся фолликулов и в строме яичников, именно вокруг фолликулов выявляется наибольшая желатинолитическая активность коллагеназ. Качественные характеристики созревающего фолликула во многом зависят от уровня и соотношения компонентов ММР/TIMP системы. Желатинолитическая активность проявляется и во время образования желтого тела,

а также играет ключевую роль в его регрессии. В лютеинизированных гранулезных клетках женщин с синдромом поликистозных яичников баланс между MMP и их TIMP сдвинут в сторону увеличения активности MMP. В связи с этим ряд авторов высказывают предположение о роли активации MMP-2 и MMP-9 в нарушении атрезии фолликулов при этом заболевании [26, 27].

В наиболее ранних клинико-лабораторных исследованиях, посвященных роли коллагеназ при раке и других новообразованиях яичников, изучали экспрессию и активность MMP в опухолях яичников различной степени злокачественности в сопоставлении с клинико-морфологическими характеристиками. Так, M.S.Naylor et al. (1994) [28] оценивали экспрессию нескольких MMP, в том числе MMP-9, в биоптатах РЯ методами зимографии и гибридизации *in situ*. В большинстве образцов обнаружили соответствующие мРНК, локализовавшиеся преимущественно в стромальных участках, причем максимальную экспрессию наблюдали в областях, смежных с областями скопления эпителиальных опухолевых клеток. Зимографически выявлено, что активность MMP-9 в биопсийных образцах РЯ была значительно выше, чем в опухолях других локализаций, изученных этими авторами ранее, однако, в отличие от других опухолей, никакой корреляции между активностью MMP-9 и степенью дифференцировки РЯ не обнаружено.

K.Sakata et al. (2000) [29] исследовали иммуногистохимически экспрессию MMP-9 и MMP-2, а также MT1-MMP, TIMP-1 и TIMP-2 в эпителиальных опухолях яичников. Частота выявления всех исследованных белков, за исключением TIMP-1, в РЯ была значительно выше, чем в ПОЯ и ДНЯ. Напротив, диффузное окрашивание на TIMP-1 было интенсивнее в ДНЯ и ПОЯ, чем его уровень при РЯ. Во всех случаях выявления диффузного окрашивания на MMP-9 отмечено отсутствие экспрессии TIMP-1. Диффузное окрашивание на MMP-9 было значительно выше в карциномах яичников с метастазами в лимфатических узлах, чем в карциномах без соответствующих метастазов.

Авторы предположили, что повышенная экспрессия MMP-9, MMP-2, MT1-MMP и TIMP-2, сопровождающаяся снижением экспрессии TIMP-1, может способствовать более активному местному распространению РЯ, а повышенная

экспрессия MMP-9 совместно с низкой экспрессией TIMP-1 — также и распространению опухолевых клеток по лимфатическим сосудам. В другом исследовании этих авторов продемонстрировано увеличение экспрессии MMP-9 и MMP-2 в клетках РЯ, выделенных из асцитической жидкости, по сравнению с мезотелиальными клетками, полученными из асцита при доброкачественных перитонеальных изменениях.

В то же время K.Q.Cai et al. (2007) [30], исследуя методами иммуногистохимического окрашивания, зимографии, Northern и Western blot анализа биоптаты и различные культуры клеток опухолей яичников, обнаружили, что MMP-9 и MMP-2 чаще выявляются в пренеопластических тканях и клетках, чем в карциномах с уже установившимся злокачественным фенотипом. Они также не выявили взаимосвязи уровня экспрессии обеих MMP со стадией заболевания и степенью злокачественности РЯ. Более того, MMP-2, достаточно часто выявлявшаяся в пренеопластических поражениях яичников, как правило, экспрессировалась на низком уровне или вообще отсутствовала в раковых клетках.

На основании этих данных авторы предположили, что увеличение экспрессии коллагеназ происходит на ранних стадиях злокачественной трансформации эпителия яичников и является одним из этиологических факторов этого процесса и/или фактором риска возникновения РЯ. Косвенно это предположение подтвердили T.Paulsen et al. (2007) [31], изучив иммуногистохимически пограничные серозные опухоли яичников у 99 больных. Авторы показали, что интенсивное окрашивание первичной опухоли на MMP-2 достоверно чаще выявляли при наличии неинвазивных имплантатов, чем при их отсутствии (76 и 53%, соответственно). Роль опухолевой MMP-2 в качестве одного из регуляторов раннего метастазирования РЯ в большой сальник подтверждена и в экспериментальных исследованиях на органо-типических культурах и ксенографтах опухолей [32].

M.Maatta et al. (2007) [33] сравнивали экспрессию MMP-9 и MMP-2, а также их ингибиторов первого и второго типа в 22 доброкачественных, 15 пограничных и 16 доброкачественных опухолях яичников. MMP-2 обнаружена в 56% доброкачественных, 40% пограничных и 90% злокачественных опухолей, экспрессия остальных маркеров

также была выше в ткани РЯ, чем в ДНЯ и ПОЯ. На основании этих данных авторы пришли к заключению, что с точки зрения экспрессии коллагеназ и TIMP пограничные опухоли яичников находятся ближе к ДНЯ, чем к злокачественным. Усиление экспрессии MMP-9 и MMP-2 при переходе от ДНЯ к злокачественным продемонстрировали также Schmalfeldt V. et al. [34].

M.Furuya et al. (2000) [35] исследовали содержание и активность MMP и TIMP в содержимом и выстилающем эпителии кист при муцинозных опухолях яичников. Активность MMP-9 выявлена во всех наблюдениях РЯ и ПОЯ и в семи из 15 аденом, при этом измеренное иммуноферментным методом содержание MMP-9 в кистозной жидкости было достоверно выше при карциномах, чем при ПОЯ и ДНЯ. Активность MMP-2 при различных муцинозных поражениях яичников не зависела от их злокачественности и была практически одинаковой, а содержание этой протеазы при РЯ хотя и было повышено по сравнению с ДНЯ и ПОЯ, но различия не достигали уровня статистической значимости. Авторы отметили также достоверное увеличение уровней TIMP-1 и TIMP-2 в муцинозных РЯ по сравнению с ПОЯ и ДНЯ. В другой работе эти же авторы описывают результаты исследования 24 серозных опухолей яичников (8 аденокарцином, 2 ПОЯ и 14 аденом). Обнаружено достоверное повышение содержания MMP-9 и MMP-2 в кистозном содержимом аденокарцином по сравнению с серозными аденомами, при этом уровни TIMP-1 и TIMP-2 в РЯ и ДНЯ не различались [35].

L.W.Huang et al. (2000) [36] методами иммуногистохимии и гибридизации *in situ* исследовали 90 эпителиальных опухолей яичников различной злокачественности и продемонстрировали достоверное увеличение экспрессии MMP-9 в серозных и муцинозных карциномах по сравнению с ДНЯ и ПОЯ. В противоположность другим авторам, они также показали, что уровень TIMP-1 — ингибитора, образующего комплексы с активной формой MMP-9, был повышен как в РЯ, так и в ПОЯ по сравнению с ДНЯ.

Наибольший интерес представляют работы, в которых оценено значение различных MMP для прогноза РЯ. Так, в одном из наиболее ранних исследований по этой проблеме B.Davidson et al. (1999) [37], определяя экспрессию MMP-2 и MMP-9 в первичных опухолях и метастазах

45 больных с распространенным (III–IV стадии FIGO) РЯ методом *in situ* гибридизации мРНК, показали, что высокий уровень экспрессии мРНК обеих коллагеназ в опухолевых клетках — фактор неблагоприятного прогноза безрецидивной и общей выживаемости. B.Davidson et al. (2002) [38] подтвердили эти данные в дальнейшем, оценив ретроспективно 20-летнюю выживаемость больных, однако исследования других авторов показали, что зависимость эта не столь однозначна.

Одной из наиболее значимых следует признать публикацию S. Sillanpaa et al. (2007) [39], проанализировавших 292 образца РЯ. В этом исследовании показано, что MMP-9 присутствует почти во всех исследованных тканях, однако клиническое значение экспрессии этой протеазы в эпителиальных опухолевых клетках и в строме противоположно. Так, с увеличением распространенности процесса уменьшается процент опухолевых клеток с высокой экспрессией MMP-9 и увеличивается доля таких клеток в строме. В соответствии с этим при однофакторном анализе общей группы больных было продемонстрировано увеличение 10-летней выживаемости среди пациенток с высоким уровнем экспрессии MMP-9 в опухоли и ее уменьшение при высоком уровне экспрессии этой протеазы в строме. При многофакторном анализе сохранилось только прогностическое значение уровня экспрессии MMP-9 в опухолевых клетках при I стадии РЯ по FIGO. Авторы предположили, что MMP-9 играет двойную роль в прогрессии РЯ, препятствуя распространению опухоли, если она находится на эпителиальных клетках, и способствуя ему, находясь на клетках стромы.

В аналогичном исследовании, включавшем 90 больных РЯ, высокая экспрессия MMP-9 выявлена в опухолевых клетках в 97% случаев, а в клетках стромы — в 70% [7]. Высокая экспрессия MMP-2 обнаружена этими исследователями в опухолевых клетках в 54% случаев, а в строме — в 38%. Высокая стромальная экспрессия обеих MMP была ассоциирована с такими показателями агрессивности процесса как поздняя клиническая стадия, наличие асцита, положительный статус лимфатических узлов. В однофакторном анализе по методу Каплана-Мейера показателем неблагоприятного прогноза общей выживаемости оказалась высокая экспрессия MMP-9 и MMP-2

не только в строме, но и в эпителиальных опухолевых клетках, однако в многофакторном тесте независимым прогностическим фактором оказалась только стромальная MMP-9.

S. Ozalp et al. (2003) [40] ретроспективно исследовали опухоли 45 больных эпителиальными опухолями яичников (30 — РЯ и 15 — ПОЯ), оценивая интенсивность иммуногистохимического окрашивания на MMP-9 по трехбалльной шкале. Интенсивность окрашивания эпителиальных клеток в злокачественных опухолях была более высокой, чем в ПОЯ, а уровень экспрессии MMP-9 в строме РЯ и ПОЯ достоверно не различался. Уровень экспрессии MMP-9 в эпителиальных клетках злокачественных опухолей не зависел от стадии заболевания и не оказывал влияния на выживаемость больных. В то же время, как и в вышеописанных исследованиях, высокий уровень экспрессии MMP-9 в строме РЯ оказался фактором неблагоприятного прогноза. A. Demeter et al. (2005) [41], оценивавшие зимографически желатиназную активность MMP-2 и MMP-9 в экстрактах опухолей, асцитической жидкости и сыворотке крови 27 больных гистологически верифицированными эпителиальными опухолями яичников, показали, что только активность MMP-9 была достоверно повышена в опухолях и асците тех больных, у которых за время 30-месячного наблюдения возник рецидив, по сравнению с нерезидивировавшими больными.

В большом ретроспективном исследовании иммуногистохимически оценена экспрессия MMP-2 в 295 первичных опухолях и 67 метастазах РЯ и показано, что низкая экспрессия этой протеазы в опухолевых клетках ассоциирована с третьей степенью злокачественности и эндометриоидным типом опухоли [42]. При многофакторном анализе высокий уровень экспрессии MMP-2 в опухолевых клетках оказался фактором благоприятного прогноза 10-летней безрецидивной выживаемости больных эпителиальным РЯ. В то же время M. Perigny et al. (2008) [43], исследовав ретроспективно опухоли и перитонеальные имплантаты 100 оперированных в 1990–2000 гг. больных РЯ III стадии, показали, что гиперэкспрессия MMP-2 в опухолевых клетках перитонеальных имплантатов ассоциирована с ухудшением общей выживаемости больных по данным многофакторного анализа, при этом экспрессия этой коллагеназы в клетках первичных опухолей не влияла на прогноз. А ранее

X. Wu et al. (2002) [44], используя комплекс методов (полуколичественный РТ-ПЦР анализ, иммуногистохимию, иммуноблоттинг), показали, что уровень экспрессии MMP-2 в РЯ выше, чем в доброкачественных эпителиальных опухолях, не зависит от основных клинико-морфологических характеристик, но является фактором неблагоприятного прогноза.

Еще в одном исследовании изучали экспрессию MMP-2, активатора MMP-2, MT1-MMP и TIMP-2 в 35 эндометриоидных и 49 серозных аденокарциномах яичников, сопоставляя результаты со стадией заболевания, степенью злокачественности и размером опухоли, а также безрецидивной и общей выживаемостью больных [45]. Однофакторный анализ показал, что высокая стромальная экспрессия MMP-2 достоверно связана с распространенной стадией, высокой злокачественностью и серозным гистотипом опухоли, меньшим размером первичной опухоли во время операции, а также с большей частотой рецидивов заболевания. Однако уровень экспрессии MMP-2 не влиял на уровень смертности больных. При многофакторном анализе стромальная экспрессия MMP-2 влияла только на выживаемость больных эндометриоидным РЯ и была для них наиболее значимым фактором прогноза.

Матрилизин (MMP-7). В подгруппу матрилизинов, помимо MMP-7, входит еще одна относительно мало изученная MMP — MMP-26, называемая также эндометазой или малой протеазой эндометрия. Помимо разрушения компонентов ВКМ, MMP-7 участвует также в процессинге некоторых биологически важных молекул клеточной поверхности — Fas-лиганда, про-TNF- α , E-кадгерина и др. Секрета MMP-7 клетками РЯ стимулируется VEGF и IL-8. В опытах *in vitro* показано, что MMP-7 увеличивает инвазивность клеток РЯ, активируя про-MMP-2 и про-MMP-9 [46].

Впервые усиление экспрессии MMP-7 в опухолях яичников было продемонстрировано H. Tanimoto et al. (1999) [47], исследовавшими методом количественного ПЦР анализа 32 РЯ, 12 ПОЯ и 10 нормальных яичников. Уровень мРНК этой протеазы оказался повышенным примерно в 75% как при злокачественных, так и ПОЯ. В дальнейшем эта же группа авторов, исследовав 44 муцинозные опухоли яичников, иммуногистохимически подтвердила увеличение экспрессии

матрилизина в клетках опухолей яичников, независимо от степени их злокачественности [48]. ММР-7 обнаружена и в слизистом секрете этих опухолей. В то же время при анализе серозных опухолей яичников показано, что казеинолитическая активность ММР-7 чаще выявлялась в злокачественных опухолях (87%), чем в доброкачественных (28%) [35]. Интересно, что в отличие от описанных выше желатиназ ММР-7 не обнаружена в строме РЯ [6].

Наиболее репрезентативное исследование клинического значения ММР-7 при РЯ было представлено в работе Sillanpaa S.M. et al. [49]. Иммуногистохимически были исследованы 284 образца первичной опухоли, 36 метастазов и 8 нормальных яичников. В опухолях эндометриоидного строения большая площадь и высокая интенсивность окрашивания на ММР-7 были достоверно ассоциированы с положительным окрашиванием ядер клеток на β -катенин. Во всей группе в целом и в подгруппе неэндометриоидных раков низкий процент окрашивания на ММР-7 коррелировал с высокой степенью злокачественности опухоли, распространенной стадией заболевания и большим объемом остаточной первичной опухоли после операции. Оцененная ретроспективно десятилетняя безрецидивная и общая выживаемость больных оказалась значительно лучше при высоком проценте интенсивного окрашивания на ММР-7, чем при низком, причем при многофакторном анализе этот показатель оказался независимым фактором благоприятного прогноза.

A. Asar et al. (2008) [50] методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание ММР-7 в сыворотке крови 28 больных РЯ, 2 — с ПОЯ, 10 женщин — с доброкачественными гинекологическими заболеваниями и 30 здоровых женщин. Уровень ММР-7 у больных РЯ был достоверно повышен по сравнению с контрольной группой и снижался после удаления опухоли. У женщин с ДНЯ уровень ММР-7 был промежуточным между контролем и больными РЯ, но достоверно не отличался ни от одной из этих подгрупп. По данным S.F. Zohny et al. (2009) [51], содержание ММР-7 в сыворотке крови является достаточно чувствительным (80%) и специфичным (87,5%) маркером для дифференциальной диагностики РЯ, лишь незначительно уступая классическому показателю СА-125. Более

того, сочетанное использование СА-125, ММР-7 и двух других маркеров (хемокиновых лигандов CCL11 и CCL18) позволяет выявить ранний РЯ с чувствительностью 94,4%.

По нашим данным, полученным при обследовании 84 первичных больных различными новообразованиями яичников, ММР-7 является значимым серологическим маркером РЯ [52]. Чувствительность этого теста относительно контроля при 95%-ной специфичности составляет 78%. Уровень ММР-7 также положительно коррелирует с ключевыми показателями распространенности РЯ: стадией заболевания, размером первичной опухоли, наличием и характером диссеминации по брюшине и метастазов в большом сальнике, наличием и количеством асцита. Предлагалось также включить уровень ММР-7 в комплексный мультианалитический тест для дифференциальной диагностики РЯ [53].

Матриксная металлопротеиназа мембранного типа 1 (MT1-MMP, MMP-14). MT1-MMP или MMP-14 представляет собой трансмембранную коллагеназу. Активная MT1-MMP служит рецептором клеточной мембраны для формирования латентного комплекса MMP-2 (про-MMP-2) и тканевого ингибитора TIMP-2. Она протеолитически активирует на клеточной поверхности про-MMP-2, разрушающую коллаген IV типа, а также сама гидролизует коллагены I, II и III типов и некоторые другие белки ВКМ. MT1-MMP задействована на многих этапах метастазирования РЯ [54], в частности, она участвует в формировании и диссеминации по брюшине мультиклеточных агрегатов, слущивающихся с поверхности опухоли в брюшную полость [55]. Вместе с другими MMP она способствует формированию так называемого «коллагенолитического» инвазивного фенотипа РЯ.

Иммуногистохимически выраженная экспрессия MT1-MMP в эпителиальных опухолевых клетках РЯ выявлена [7] в 100% случаев, в стромальных клетках — только в 38%. Высокая экспрессия этой протеазы в строме была ассоциирована с клинико-морфологическими признаками агрессивности процесса — поздней стадией, высокой степенью злокачественности опухоли, наличием метастазов в лимфатических узлах и асцита. Уменьшение безрецидивной выживаемости больных связано с высокой экспрессией MT1-MMP как в строме, так и в эпителии, а наиболее значимым фактором

неблагоприятного прогноза оказалась высокая эпителиальная экспрессия МТ1-ММР.

Ретроспективный анализ 20-летней выживаемости больных РЯ III–IV стадий в зависимости от уровня экспрессии мРНК МТ1-ММР, определенного методом гибридизации *in situ*, также подтвердил неблагоприятное влияние повышенной экспрессии этой ММР на прогноз [56]. Кроме того, эти авторы подтвердили наблюдение [7] о том, что в отличие от других ММР, МТ1-ММР выявляется преимущественно в эпителиальных опухолевых клетках и почти отсутствует в строме [56]. Неблагоприятная роль МТ1-ММР, в особенности при ее ко-экспрессии с ММР-2 и ТИМР-2, в прогнозе выживаемости больных РЯ продемонстрирована также К. Sakata et al. (2000) [29]. В одной из недавних работ продемонстрирована важная роль МТ1-ММР (ММР-14) в пролиферации и метастазировании редкой формы РЯ — светлоклеточной аденокарциномы [57].

ТИМР. В ткани РЯ ТИМР-1 и ТИМР-2 находятся как в стромальных областях, так и в опухолевых клетках. Данные о соотношении уровня экспрессии ТИМР-1 в РЯ, ПОЯ и ДНЯ немногочисленны и противоречивы. Так, М. Furuya et al. (2000) [35], S.F. Zohny et al. (2009) [51] продемонстрировали иммуноферментным методом увеличение содержания этого маркера в кистозной жидкости больных серозным и муцинозным [35] РЯ. В. Davidson et al. (2002) [56] выявили увеличение уровня экспрессии ТИМР-1 в ткани РЯ иммуногистохимически и методом *in situ* гибридизации. В то же время К. Sakata et al. (2000) [29] обнаружили, что диффузное иммуногистохимическое окрашивание на ТИМР-1 было интенсивнее в ДНЯ и ПОЯ, чем в аденокарциномах яичников. По данным авторов, высокая экспрессия ТИМР-1, особенно в сочетании с низкой экспрессией ММР-9, способствует метастазированию РЯ в лимфатические узлы.

Наиболее интересные результаты получены при исследовании уровня ТИМР-1 в сыворотке крови. Так, М. Maatta et al. (2007) [33] предложили использовать сывороточный ТИМР-1 для дифференциальной диагностики опухолей яичников с высоким и низким злокачественным потенциалом. По их данным уровень ТИМР-1 в сыворотке крови больных достоверно возрастает при переходе от ДНЯ (137-616, медиана — 250 нг/мл) к ПОЯ (63-587, медиана — 357 нг/мл) и далее к злокачественным (199-983, медиана 443 нг/мл).

М. Rauvala et al. (2005) [58] также показали, что высокая концентрация ТИМР-1 в сыворотке крови больных опухолями яичников во время постановки диагноза коррелировала со злокачественным фенотипом опухоли, а у больных РЯ — с агрессивным фенотипом и неблагоприятным прогнозом: повышенный уровень ТИМР-1 обнаружен при распространенных стадиях заболевания, размере остаточной опухоли более 2 см, плохим ответом на цитотоксическую терапию, более короткой безрецидивной и общей выживаемостью. Авторы считают, что повышенный дооперационный уровень ТИМР-1 в сыворотке крови — фактор неблагоприятного прогноза РЯ. В то же время в другом своем исследовании они не выявили взаимосвязи динамики изменения уровня ТИМР-1 в процессе химиотерапии с ее эффективностью [59]. Ранее неблагоприятное прогностическое значение высоких показателей ТИМР-1 в плазме крови больных РЯ продемонстрировали Manenti et al. (2003) [60].

Исследование, проведенное параллельно на образцах тканей и культурах клеток опухолей яичников, показало, что гиперэкспрессия ТИМР-2 в клетках РЯ ингибирует апоптоз, индуцированный цисплатином, и индуцирует ММР-2, и поэтому полагают, что ТИМР-2 может способствовать росту серозных опухолей яичников [61]. В подтверждение этого предположения D. Davidson et al. (2002) [56] продемонстрировали неблагоприятное прогностическое значение высокой экспрессии мРНК и белка ТИМР-2 в опухолевых и стромальных клетках распространенного РЯ, причем уровень экспрессии ТИМР-2 в строме оставался значимым показателем прогноза и при многофакторном анализе. В то же время L. Manenti et al. (2003) [60], P.L. Torng et al. (2004) [45] не подтвердили роли ТИМР-2 в прогнозе РЯ. По данным К. Sakata et al. (2000) [29], экспрессия ТИМР-2 повышена в злокачественных опухолях яичников по сравнению с ДНЯ и ПОЯ. Кроме того, тройное диффузное положительное иммуногистохимическое окрашивание на ТИМР-2, ММР-2 и МТ1-ММР было ассоциировано с распространенными стадиями и высокой степенью злокачественности РЯ.

М. Maatta et al. (2004) [62] также выявили более высокую экспрессию ТИМР-2 в злокачественных опухолях, чем в ПОЯ. Однако Т. Okamoto et al. (2003) [63], сравнивавшие уровни экспрессии

нескольких MMP и TIMP в опухолях и окружающих гистологически неизмененных тканях больных РЯ различного гистологического строения, утверждают, что повышенная экспрессия TIMP-2 наблюдается только при светлоклеточном раке и является уникальным свойством этого достаточно редкого гистологического варианта РЯ.

В отличие от TIMP-1 уровень TIMP-2 в сыворотке крови больных РЯ не был связан с клинико-морфологическими особенностями и прогнозом заболевания (Rauvala M. et al., 2005) [58], но имел тенденцию к повышению у больных раком по сравнению со здоровыми женщинами. При этом у больных с полным ответом на химиотерапевтическое лечение после оптимально проведенной операции отмечены более высокие уровни TIMP-2, чем у больных с частичным ответом [59].

В единичных исследованиях продемонстрировано также увеличение экспрессии TIMP-3 и TIMP-4 по мере увеличения инвазивности РЯ [64, 65], однако дальнейшего прикладного развития эти работы пока не получили.

MMP как потенциальные мишени для таргетной терапии РЯ

На экспериментальных моделях разработано несколько подходов к использованию MMP в качестве мишеней для противоопухолевой терапии:

- 1) блокирование синтеза MMP;
- 2) подавление взаимодействия MMP с молекулами, направляющими их к клеточной поверхности и межклеточному пространству;
- 3) ингибирование ферментативной активности MMP.

Прямое подавление синтеза MMP осуществляется с помощью трансфекции в клетки антисмысловых (ас) мРНК или олигонуклеотидов. В частности, показано, что ас-мРНК к MMP-9 снижает инвазивность культивируемых клеток РЯ и их прикрепление к поверхностям, покрытым фибронектином [64]. Использование ас-мРНК против MMP-7 снижало количество этого фермента в культивируемых клетках РЯ и подавляло их инвазию, индуцированную лизофосфатидиловой кислотой. Ас-мРНК против MT1-MMP подавляли не только инвазию, но и пролиферацию культуры клеток РЯ SW626 [66]. Однако вопрос о возможности использовать подобные технологии в клинической практике остается пока открытым. Кроме того, на уровень экспрессии MMP

могут опосредованно повлиять препараты, направленные на передачу сигналов различных тирозинкиназных рецепторов (факторов роста, цитокинов) [67]. В частности, установлено, что в регуляции экспрессии и активности MMP в клетках РЯ участвуют такие сигнальные системы, как PI3K/Akt [68], Raf/Ras [69], циклооксигеназная [70].

Подавление взаимодействия MMP с белками клеточной поверхности также может заблокировать важные для инвазии проявления их активности в межклеточном пространстве. Перспективной мишенью в этом случае становится взаимодействие с интегринами и кадгеринами, способствующих сближению клеток РЯ с поверхности опухоли, их диссеминации по брюшине и образованию асцита [71].

Ингибирование ферментативной активности MMP — самый прямой путь влияния на их проинвазивную и прометастатическую активность. Первоначально наиболее очевидным подходом представлялось использование их природных тканевых ингибиторов. В экспериментальных исследованиях был даже продемонстрирован противоопухолевый эффект TIMP-2 и TIMP-4 [72, 73]. Однако возможности системного введения TIMP ограничены тем, что они обладают независимой от MMP проканцерогенной и проангиогенной активностью [10]. В связи с этим разрабатываются синтетические высокоспецифичные ингибиторы MMP (большинство из них — производные гидроксамовой кислоты), которые могли бы достигать эффективных концентраций в крови и вызывать регрессию опухоли.

Клинические испытания проходили пять ингибиторов MMP [13]: Маримастан исследовали при ранних стадиях рака поджелудочной железы, BMS-275291 — при прогрессирующем немелкоклеточном раке легкого, Приномастан — при ранних стадиях солидных опухолей, Метастат (тетрациклиновые ингибиторы MMP) — при саркоме Капоши, Неовастан — при неоперабельном раке почки. Однако при применении этих препаратов возникло много различных проблем. Уже ранние исследования I фазы показали, что длительное введение ингибиторов MMP сопряжено с появлением мышечных болей у 30% больных и воспалительных процессов, которые не наблюдали в доклинических исследованиях. Маримастан и Приномастан показали минимальный эффект

у больных с диссеминацией. Клинические исследования ВАУ-129566 были прекращены на ранних этапах исследования из-за низкой выживаемости больных. Ингибиторы ММР — цитостатические препараты, и их биологическую активность во II фазе клинических испытаний определяли не по уменьшению размеров опухоли, а по снижению темпов возрастания уровней опухолевых маркеров в сыворотке крови больных (в частности, для Маримастата). Большинство препаратов сразу после испытаний I фазы изучали во II/III фазах без исследований на небольших группах больных. Возможно, именно по этим причинам результаты III фазы клинических испытаний ингибиторов ММР оказались неудовлетворительными. В большинстве исследований эти препараты оказались неэффективными, а в ряде случаев даже ухудшали результаты химиотерапии.

Предполагается, что неэффективность синтетических ингибиторов ММР может быть связана с включением в исследование больных на поздних стадиях опухолевого процесса, либо с тем, что препараты имели низкую специфичность и, возможно, ингибировали и ММР с собственной

противоопухолевой активностью, либо высокой частотой ревматоидно-подобных воспалительных реакций, что ограничивало возможности продолжить лечение препаратом в эффективных дозах. Осложнения имели обратимый характер, но ограничивали возможность использовать дозы, продемонстрировавшие эффективность в доклинических исследованиях, поэтому в дальнейшем пришлось их уменьшить. Нерешенным остается также вопрос о том, какие ММР связаны с появлением побочных реакций (миалгии), а какие являются мишенью для противоопухолевой терапии.

Сегодня разрабатываются ингибиторы ММР следующего поколения, обладающие высокой специфичностью к ММР одного типа [74]. Кроме того, изучение спектра, уровня и соотношения экспрессии различных видов ММР и их TIMP, их биологического и прогностического значения может также оказаться полезным для разработки и эффективного применения новых ингибиторов ММР, специфичных для опухолей определенной локализации, в частности, для РЯ и/или для конкретного больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hanahan D., Weinberg R. Hallmarks of Cancer: The Next Generation // *Cell*. 2011. Vol. 144 (5). P. 646–674.
2. Malesud C.J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview // *Front Biosci*. 2006. Vol. 11. P. 1696–1701.
3. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry // *Circ Res*. 2003. Vol. 92 (8). P. 827–839.
4. Ramnath N., Creaven P.J. Matrix metalloproteinase inhibitors // *Curr Oncol Rep*. 2004. Vol. 6 (2). P. 96–102.
5. Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S. et al. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen // *Nature*. 1980. Vol. 284 (5751). P. 67–68.
6. Furuya M., Ishikura H., Nemori R. et al. Clarification of the active gelatinolytic sites in human ovarian neoplasms using in situ zymography // *Hum Pathol*. 2001. Vol. 32 (2). P. 163–168.
7. Kamat A.A., Fletcher M., Gruman L.M. et al. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer // *Clin Cancer Res*. 2006. Vol. 12 (6). P. 1707–1714.
8. Deryugina E.I., Quigley J.P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis // *Cancer Metastasis Rev*. 2006. Vol. 25 (1). P. 9–34.
9. Nelson A.R., Fingleton B., Rothenberg M.L., Matrisian L.M. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications // *J Clin Oncol*. 2000. Vol. 18 (5). P. 1135–1149.
10. Deryugina E.I., Quigley J.P. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions // *Biochim Biophys Acta*. 2010. Vol. 1803 (1). P. 103–120.
11. Duffy M.J. Proteases as prognostic markers in cancer // *Clin Cancer Res*. 1996. Vol. 2 (4). P. 613–618.
12. Westermarck J., Kahari V.M. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion // *FASEB J*. 1999. Vol. 13 (8). P. 781–792.
13. Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression // *Nat Rev Cancer*. 2002. Vol. 2 (3). P. 161–174.

14. Nikkola J., Vihinen P., Vuoristo M.S. et al. High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma // *Clin Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (14). P. 5158–5166.
15. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities // *J Cell Sci.* 2002. Vol. 115 (Pt 19). P. 3719–3727.
16. Jumper C., Cobos E., Lox C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment // *Respir Med.* 2004. Vol. 98 (2). P. 173–177.
17. Kenny H.A., Lengyel E. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis // *Cell Cycle.* 2009. Vol. 8 (5). P. 683–688.
18. Ellerbroek S.M., Wu Y.L., Overall C.M., Stack M.S. Functional interplay between type I collagen and cell surface matrix metalloproteinase activity // *J Biol Chem.* 2001. Vol. 276 (27). P. 24833–24842.
19. Rodriguez G.C., Haisley C., Hurteau J. et al. Regulation of invasion of epithelial ovarian cancer by transforming growth factor-beta // *Gynecol Oncol.* 2001. Vol. 80 (2). P. 245–253.
20. Belotti D., Paganoni P., Manenti L. et al. Matrix metalloproteinases (MMP9 and MMP2) induce the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) by ovarian carcinoma cells: implications for ascites formation // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63 (17). P. 5224–5229.
21. Zhang A., Meng L., Wang Q. et al. Enhanced in vitro invasiveness of ovarian cancer cells through up-regulation of VEGF and induction of MMP-2 // *Oncol Rep.* 2006. Vol. 15 (4). P. 831–836.
22. Wang F.Q., So J., Reierstad S., Fishman D.A. Vascular endothelial growth factor-regulated ovarian cancer invasion and migration involves expression and activation of matrix metalloproteinases // *Int J Cancer.* 2006. Vol. 118 (4). P. 879–888.
23. Belotti D., Calcagno C., Garofalo A. et al. Vascular endothelial growth factor stimulates organ-specific host matrix metalloproteinase-9 expression and ovarian cancer invasion // *Mol Cancer Res.* 2008. Vol. 6 (4). P. 525–534.
24. Lutendorf S.K., Lamkin D.M., Jennings N.B. et al. Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma // *Clin Cancer Res.* 2008. Vol. 14 (21). P. 6839–6846.
25. Goldman S., Shalev E. MMPs and TIMPs in ovarian physiology and pathophysiology // *Front Biosci.* 2004. Vol. 9. P. 2474–2483.
26. Lewandowski K.C., Komorowski J., O'Callaghan C.J. et al. Increased circulating levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in women with the polycystic ovary syndrome // *J Clin Endocrinol Metab.* 2006. Vol. 91 (3). P. 1173–1177.
27. Liu B., Cai L.Y., Liu H.M. et al. Raised serum levels of matrix metalloproteinase-9 in women with polycystic ovary syndrome and its association with insulin-like growth factor binding protein-1 // *Gynecol Endocrinol.* 2008. Vol. 24 (5). P. 285–288.
28. Naylor M.S., Stamp G.W., Davies B.D., Balkwill F.R. Expression and activity of MMPs and their regulators in ovarian cancer // *Int J Cancer.* 1994. Vol. 58 (1). P. 50–56.
29. Sakata K., Shigemasa K., Nagai N., Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary // *Int J Oncol.* 2000. Vol. 17 (4). P. 673–681.
30. Cai K.Q., Yang W.L., Capo-Chichi C.D. et al. Prominent expression of metalloproteinases in early stages of ovarian tumorigenesis // *Mol Carcinog.* 2007. Vol. 46 (2). P. 130–143.
31. Paulsen T., Ree A.H., Kaern J. et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 in serous borderline ovarian tumors is associated with noninvasive implant formation // *Eur J Gynaecol Oncol.* 2007. Vol. 28 (5). P. 356–363.
32. Kenny H.A., Lengyel E. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis // *Cell Cycle.* 2009. Vol. 8 (5). P. 683–688.
33. Maatta M., Talvensaaari-Mattila A., Turpeenniemi-Hujanen T., Santala M. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) and their tissue inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in differential diagnosis between low malignant potential (LMP) and malignant ovarian tumours // *Anticancer Res.* 2007. Vol. 27 (4C). P. 2753–2758.
34. Schmalfeldt B., Prechtel D., Harting K. et al. Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9, and the urokinase-type.
35. Furuya M., Ishikura H., Kawarada Y. et al. Expression of matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors in the cyst fluids of ovarian mucinous neoplasms // *Gynecol Oncol.* 2000. Vol. 78 (2). P. 106–112.

36. Huang L.W., Garrett A.P., Bell D.A. et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors // *Gynecol Oncol.* 2000. Vol. 77 (3). P. 369–376.
37. Davidson B., Goldberg I., Gotlieb W.H. et al. High levels of MMP-2, MMP-9, MT1-MMP and TIMP-2 mRNA correlate with poor survival in ovarian carcinoma // *Clin Exp Metastasis.* 1999. Vol. 17 (10). P. 799–808.
38. Davidson B., Goldberg I., Gotlieb W.H. et al. The prognostic value of metalloproteinases and angiogenic factors in ovarian carcinoma // *Mol. Cell Endocrinol.* 2002. Vol. 187 (1–2). P. 39–45.
39. Sillanpaa S., Anttila M., Voutilainen K. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer // *Gynecol Oncol.* 2007. Vol. 104 (2). P. 296–303.
40. Ozalp S., Tanir H.M., Yalcin O.T. et al. Prognostic value of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase-B) expression in epithelial ovarian tumors // *Eur J Gynaecol Oncol.* 2003. Vol. 24 (5). P. 417–420.
41. Demeter A., Sziller I., Csapo Z. et al. Molecular prognostic markers in recurrent and in non-recurrent epithelial ovarian cancer // *Anticancer Res.* 2005. Vol. 25 (4). P. 2885–2889.
42. Sillanpaa S., Anttila M., Suhonen K. et al. Prognostic significance of extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase 2 in epithelial ovarian cancer // *Tumour Biol.* 2007. Vol. 28 (5). P. 280–289.
43. Perigny M., Bairati I., Harvey I. et al. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer // *Am J Clin Pathol.* 2008. Vol. 129 (2). P. 226–231.
44. Wu X., Li H., Kang L. et al. Activated matrix metalloproteinase-2-a potential marker of prognosis for epithelial ovarian cancer // *Gynecol Oncol.* 2002. Vol. 84 (1). P. 126–134.
45. Torng P.L., Mao T.L., Chan W.Y. et al. Prognostic significance of stromal metalloproteinase-2 in ovarian adenocarcinoma and its relation to carcinoma progression // *Gynecol Oncol.* 2004. Vol. 92 (2). P. 559–567.
46. Wang F.Q., So J., Reierstad S., Fishman D.A. Matrilysin (MMP-7) promotes invasion of ovarian cancer cells by activation of progelatinase // *Int J Cancer.* 2005. Vol. 114 (1). P. 19–31.
47. Tanimoto H., Underwood L.J., Shigemasa K. et al. The matrix metalloprotease pump-1 (MMP-7, Matrilysin): A candidate marker/target for ovarian cancer detection and treatment // *Tumour Biol.* 1999. Vol. 20 (2). P. 88–98.
48. Shigemasa K., Tanimoto H., Sakata K. et al. Induction of matrix metalloprotease-7 is common in mucinous ovarian tumors including early stage disease // *Med Oncol.* 2000. Vol. 17 (1). P. 52–58.
49. Sillanpaa S.M., Anttila M.A., Voutilainen K.A. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in epithelial ovarian cancer and its relation to beta-catenin expression // *Int J Cancer.* 2006. Vol. 119 (8). P. 1792–1799.
50. Acar A., Onan A., Coskun U. et al. Clinical significance of serum MMP-2 and MMP-7 in patients with ovarian cancer // *Med Oncol.* 2008. Vol. 25 (3). P. 279–283.
51. Zohny S.F., Fayed S.T. Clinical utility of circulating matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), CC chemokine ligand 18 (CCL18) and CC chemokine ligand 11 (CCL11) as markers for diagnosis of epithelial ovarian cancer // *Med Oncol.* 2009. Vol. 27 (4). P. 1246–1253.
52. Герштейн Е.С. и соавт., 2011.
53. Meinhold-Heerlein I., Bauerschlag D., Zhou Y. et al. An integrated clinical-genomics approach identifies a candidate multi-analyte blood test for serous ovarian carcinoma // *Clin Cancer Res.* 2007. Vol. 13 (2 Pt 1). P. 458–466.
54. Sodek K.L., Ringuette M.J., Brown T.J. MT1-MMP is the critical determinant of matrix degradation and invasion by ovarian cancer cells // *Br J Cancer.* 2007. Vol. 97 (3). P. 358–367.
55. Moss N.M., Barbolina M.V., Liu Y. et al. Ovarian cancer cell detachment and multicellular aggregate formation are regulated by membrane type 1 matrix metalloproteinase: a potential role in I.p. metastatic dissemination // *Cancer Res.* 2009. Vol. 69 (17). P. 7121–7129.
56. Davidson B., Goldberg I., Gotlieb W.H. et al. The prognostic value of metalloproteinases and angiogenic factors in ovarian carcinoma // *Mol Cell Endocrinol.* 2002. Vol. 187 (1–2). P. 39–45.
57. Adley B.P., Gleason K.J., Yang X.J., Stack M.S. Expression of membrane type 1 matrix metalloproteinase (MMP-14) in epithelial ovarian cancer: high level expression in clear cell carcinoma // *Gynecol Oncol.* 2009. Vol. 112 (2). P. 319–324.
58. Rauvala M., Puustola U., Turpeenniemi-Hujanen T. Gelatinases and their tissue inhibitors in ovarian tumors; TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor // *Gynecol Oncol.* 2005. Vol. 99 (3). P. 656–663.
59. Rauvala M., Turpeenniemi-Hujanen T., Puustola U. The value of sequential serum measurements of gelatinases and tissue inhibitors during chemotherapy in ovarian cancer // *Anticancer Res.* 2006. Vol. 26 (6C). P. 4779–4784.

60. *Manenti L., Paganoni P., Floriani I.* et al. Expression levels of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 in the plasma of patients with ovarian carcinoma // *Eur J Cancer*. 2003. Vol. 39 (13). P. 1948–1956.
61. *Kim T.J., Rho S.B., Choi Y.L.* et al. High expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in serous ovarian carcinomas and the role of this expression in ovarian tumorigenesis // *Hum Pathol*. 2006. Vol. 37 (7). P. 906–913.
62. *Maatta M., Santala M., Soini Y.* et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors in low malignant potential ovarian tumors // *Tumour Biol*. 2004. Vol. 25 (4). P. 188–192.
63. *Okamoto T., Niu R., Yamada S.* Increased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in clear cell carcinoma of the ovary // *Mol Hum Reprod*. 2003. Vol. 9 (10). P. 569–575.
64. *Hu X.X., Li L., Li D.R.* et al. [Inhibitory effects of antisense MMP-9 oligodeoxynucleotides on invasiveness and adherence of ovarian cancer cells] // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2006. Vol. 28 (9). P. 662–665.
65. *Ripley D., Tunuguntla R., Susi L., Chegini N.* Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinase-3 and -4 in normal ovary and ovarian carcinoma // *Int J Gynecol Cancer*. 2006. Vol. 16 (5). P. 1794–1800.
66. *Wu M., Xu G., Xi L.* et al. Down-regulation of MT1-MMP expression suppresses tumor cell invasion in metastatic human SW626 ovarian cancer cells // *Oncol Rep*. 2006. Vol. 15 (2). P. 501–505.
67. *Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е.* Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии. // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2007. Vol. (1). P. 4–9.
68. *Choi J.H., Choi K.C., Auersperg N., Leung P.C.* Gonadotropins activate proteolysis and increase invasion through protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase pathways in human epithelial ovarian cancer cells // *Cancer Res*. 2006. Vol. 66 (7). P. 3912–3920.
69. *Ulku A.S., Schafer R., Der C.J.* Essential role of Raf in Ras transformation and deregulation of matrix metalloproteinase expression in ovarian epithelial cells // *Mol Cancer Res*. 2003. Vol. 1 (14). P. 1077–1088.
70. *Lau M.T., Wong A.S., Leung P.C.* Gonadotropins induce tumor cell migration and invasion by increasing cyclooxygenases expression and prostaglandin E(2) production in human ovarian cancer cells // *Endocrinology*. 2010. Vol. 151 (7). P. 2985–2993.
71. *Symowicz J., Adley B.P., Gleason K.J.* et al. Engagement of collagen-binding integrins promotes matrix metalloproteinase-9-dependent E-cadherin ectodomain shedding in ovarian carcinoma cells // *Cancer Res*. 2007. Vol. 67 (5). P. 2030–2039.
72. *Brand K., Baker A.H., Perez-Canto A.* et al. Treatment of colorectal liver metastases by adenoviral transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 into the liver tissue // *Cancer Res*. 2000. Vol. 60 (20). P. 5723–5730.
73. *Celiker M.Y., Wang M., Atsidaftos E.* et al. Inhibition of Wilms' tumor growth by intramuscular administration of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 plasmid DNA // *Oncogene*. 2001. Vol. 20 (32). P. 4337–4343.
74. *Murphy G., Nagase H.* Progress in matrix metalloproteinase research // *Mol Aspects Med*. 2008. Vol. 29 (5). P. 290–308.