



Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия

Герштейн Е.С.¹ • Муштенко С.В.² • Кузнецов Р.Э.³ • Ермилова В.Д.¹ • Левченко Н.Е.¹ • Кушлинский Н.Е.¹

Актуальность. Несмотря на относительно благоприятное клиническое течение и удовлетворительный прогноз, рост заболеваемости раком эндометрия, наблюдающийся в последние годы как в нашей стране, так и за рубежом, диктует необходимость разработки новых подходов к раннему выявлению, прогнозированию исхода болезни и индивидуализации выбора послеоперационного лечения. В этой связи не теряет актуальности изучение биологических маркеров, характеризующих фундаментальные свойства опухоли, такие как способность к метастазированию и инвазии, пролиферативная активность, чувствительность к эндогенным и экзогенным регуляторам. К таким маркерам относятся матриксные металлопротеиназы (ММП), разрушающие большинство компонентов внеклеточного матрикса и вовлеченные во все этапы опухолевого процесса. **Цель** – сравнительное изучение содержания ММП-2, 7, 9 и их тканевых ингибиторов 1-го и 2-го типа (ТИМП-1, 2) в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия и практически здоровых женщин, а также анализ взаимосвязи этих показателей с клинико-морфологическими особенностями рака и доброкачественных изменений эндометрия для оценки их потенциального диагностического и прогностического значения. **Материал и методы.** Обследованы 94 больных раком эндометрия и 53 женщины с доброкачественными изменениями эндометрия

(у 28 – полипы, у 25 – гиперплазия различной степени тяжести). Возраст больных раком составил 36–78 лет (медиана 60 лет), с доброкачественными новообразованиями – 20–79 лет (медиана 54 года). В группу контроля включены 77 практически здоровых женщин в возрасте 19–75 лет (медиана 46 лет). Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа (Quantikine, R&D Systems, США). **Результаты и обсуждение.** Продemonстрировано значимое увеличение уровней ММП-7 и ТИМП-2 как при раке (медианы 5,5 и 96,9 нг/мл соответственно), так и при доброкачественных изменениях эндометрия (медианы 5,7 и 73,2 нг/мл соответственно) по сравнению с контролем (медианы 2,1 и 60,7 нг/мл). При построении ROC-кривой определен пороговый уровень ММП-7 (3,5 нг/мл) с хорошим соотношением чувствительности и специфичности выявления рака эндометрия – 88 и 87% соответственно, однако он не позволяет провести дифференциальную диагностику между доброкачественными и злокачественными поражениями эндометрия. Уровни ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1, напротив, были снижены у пациенток с заболеваниями эндометрия по сравнению с контролем в 1,2–1,3 раза; уровни ММП-9 и ТИМП-1 были также ниже у больных раком, чем у больных полипами и гиперплазией эндометрия. Значимой взаимосвязи уровней исследованных маркеров

с показателями распространенности, гистологическим строением и степенью дифференцировки рака эндометрия не обнаружено. Не выявлено также различий между содержанием маркеров в сыворотке крови пациенток с полипами и гиперплазией эндометрия различной степени тяжести. **Заключение.** Исследованные ММП и ТИМП нельзя рассматривать в качестве потенциальных диагностических маркеров рака эндометрия, но они могут быть полезны для мониторинга и прогноза заболевания, а также для оценки чувствительности к таргетной терапии.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы 2, 7, 9, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ 1-го и 2-го типа, сыворотка крови, рак эндометрия, полип эндометрия, гиперплазия эндометрия

Для цитирования: Герштейн ЕС, Муштенко СВ, Кузнецов РЕ, Ермилова ВД, Левченко НЕ, Кушлинский НЕ. Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия. Альманах клинической медицины. 2017;45(4):280–8. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-280-288

Поступила 28.04.2017;
принята к публикации 18.05.2017



Рак эндометрия – одно из наиболее распространенных онкогинекологических заболеваний. Несмотря на относительно благоприятное клиническое течение и удовлетворительный прогноз, рост заболеваемости раком эндометрия, наблюдающийся в последние годы как в нашей стране, так и за рубежом, диктует необходимость разработки новых подходов к раннему выявлению, прогнозированию исхода болезни и индивидуализации выбора послеоперационного лечения. В этой связи не теряет актуальности изучение биологических маркеров, характеризующих фундаментальные свойства опухоли, такие как способность к метастазированию и инвазии, пролиферативная активность, чувствительность к эндогенным и экзогенным регуляторам и т.п.

Хорошо известно, что один из ключевых механизмов местной инвазии и отдаленного метастазирования злокачественных опухолей – разрушение окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса ассоциированными с опухолью протеиназами. В эти процессы вовлечено несколько классов протеиназ, к важнейшим из которых следует отнести семейство матриксных металлопротеиназ (ММП), или матриксинов, названных так за свою способность специфически гидролизовать все основные белки внеклеточного матрикса, в первую очередь коллаген [1]. В свою очередь, к важнейшим представителям семейства ММП относят желатиназы А и В (ММП-2 и 9 соответственно) – специфические коллагеназы коллагена IV типа, а также матрилизин – ММП-7, имеющий широкую субстратную специфичность и гидролизующий помимо коллагена IV также эластин, протеогликаны, фибронектин и др. Матрилизин участвует и в активации предшественников ММП-2 и 9 [2]. Активность всех ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется их тканевыми ингибиторами (ТИМП) – четырьмя структурно родственными белками, три из которых (ТИМП-1, 2 и 4) секретируются в растворимой форме, а один (ТИМП-3) связан с внеклеточным матриксом [3]. Наиболее значимыми считаются ингибиторы 1-го и 2-го типа, проявляющие независимую от ММП биологическую активность, участвуя, в частности, в регуляции ангиогенеза.

Экспрессию различных ММП, в первую очередь желатиназ, в ткани рака эндометрия достаточно активно изучают начиная уже с конца 90-х гг. XX в. [4–7]. В фокусе внимания исследователей значение системы ММП/ТИМП для

функционирования нормального эндометрия и ее роль как при различных его доброкачественных изменениях [3, 8–10], так и при эндометриозе [11, 12]. Большинство авторов отмечают увеличение экспрессии ММП-2 и ММП-9 в клетках рака по сравнению с нормальными клетками эндометрия, а также взаимосвязь высокой экспрессии этих маркеров с большей распространенностью процесса и неблагоприятным прогнозом [8, 11, 13–21]. Менее изучена, но тем не менее весьма значима роль представителей другого подсемейства ММП – матрилизинов [7–9, 22–24], которые включают не только хорошо известный матрилизин 1 (ММП-7), но и матрилизин 2 (ММП-26), называемый также эндометаза, поскольку он впервые был выявлен именно в клетках эндометрия [25]. Особенность матрилизинов – их локализация исключительно в эпителиальных опухолевых клетках, тогда как большинство других ММП выявляются как непосредственно в клетках опухолей, так и в окружающей строме. При этом о роли ММП и ТИМП, циркулирующих в периферической крови больных раком эндометрия, почти ничего не известно [26, 27].

Цель данного исследования – сравнительное изучение содержания ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1, 2 в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия и практически здоровых женщин, а также анализ взаимосвязи этих показателей с клинико-морфологическими особенностями рака и доброкачественных изменений эндометрия для оценки их потенциального диагностического и прогностического значения.

Материал и методы

Обследованы 94 больных раком эндометрия и 53 женщины с доброкачественными изменениями эндометрия (у 28 – полипы, у 25 – гиперплазия различной степени тяжести). Возраст больных раком составил от 36 до 78 лет (медиана 60 лет), больных доброкачественными заболеваниями – от 20 до 79 лет (медиана 54 года). Восемьдесят девять больных раком эндометрия в момент исследования маркеров были в постменопаузе, 2 – в предменопаузе, у 2 менструальная функция была сохранена и еще у 1 пациентки установлена аменорея. В соответствии с классификацией Международной федерации гинекологов и акушеров (The International Federation of Gynecology and Obstetrics – FIGO) у 72 больных раком эндометрия была Ia, у 11 – Ib, у 5 – IIa стадия заболевания; остальные стадии (карцинома *in situ*, IIIa–с, IV) были представлены

Герштейн Елена Сергеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр., лаборатория клинической биохимии¹
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.
Тел.: +7 (499) 324 11 59.
E-mail: esgershtein@gmail.com

Муштенко Светлана Владимировна – аспирант, кафедра онкологии²

Кузнецов Роман Эдуардович – д-р мед. наук, руководитель отделения гинекологии³

Ермилова Валерия Дмитриевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., отдел патологической анатомии опухолей человека¹

Левченко Наталья Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения онкогинекологии¹

Кушлинский Николай Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель лаборатории биохимии¹

¹ ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, 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 ФГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы»; 125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, 5, Российская Федерация



Таблица 1. Содержание (нг/мл) матричных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевых ингибиторов 1-го и 2-го типа в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия и группы контроля

Обследованные группы	n	ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Больные раком эндометрия (группа 1)	94	466 353–670	5,5 4,2–7,2	760 573–1001	239 211–268	96,9 55,3–1231
Больные доброкачественными заболеваниями эндометрия (группа 2)	53	405 325–544	5,7 4,5–7,0	941 737–1138	278 244–307	73,2 62,8–91,1
Контроль (К)	71	573 437–815	2,1* 1,7–2,7	976** 757–1271	296# 232–332	60,7## 42,2–106
<i>p</i> (тест Краскела – Уоллиса)		0,0005	0,0001	0,0006	0,017	0,025
<i>p</i> (тест Манна – Уитни)		$p_{2-к} < 0,001$ $p_{1-к} < 0,05$	$p_{1-к} < 0,001$ $p_{2-к} < 0,001$	$p_{1-к} < 0,001$ $p_{1-2} < 0,05$	$p_{1-к} < 0,001$ $p_{1-2} < 0,05$	$p_{1-2} < 0,05$

ММП – матричная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа, ТИМП-2 – тканевой ингибитор 2-го типа, n – количество пациентов

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей

* В группу контроля вошли 52 женщины

** В группу контроля вошли 66 женщин

В группу контроля вошли 42 женщины

В группу контроля вошли 18 женщин

единичными наблюдениями. У всех пациенток клинический диагноз подтвержден данными гистологического исследования. В группу контроля были включены 77 практически здоровых женщин в возрасте от 19 до 75 лет (медиана 46 лет).

Концентрацию исследуемых белков в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа Total MMP-2 Immunoassay, Human MMP-7 Immunoassay, Human MMP-9 Immunoassay, Human TIMP-1 Immunoassay, Human TIMP-2 Immunoassay (Quantikine, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Концентрацию всех маркеров выражали в нанogramмах на 1 мл сыворотки крови (нг/мл).

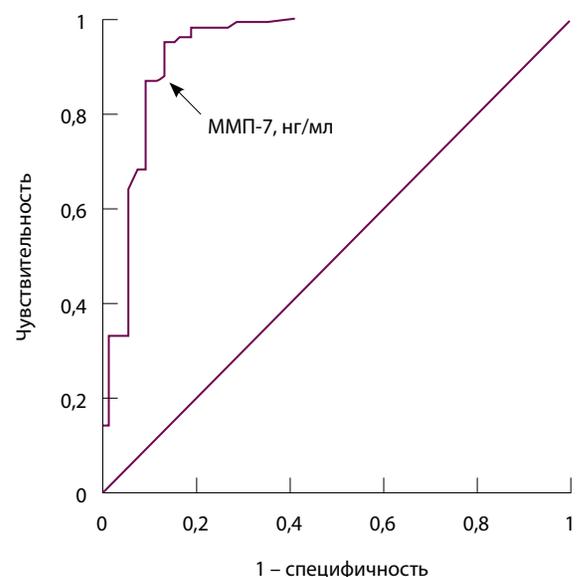
Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса. Различия считали

значимыми при $p < 0,05$. Во всех таблицах представлены показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей.

Результаты и обсуждение

Содержание ММП-7 и ТИМП-2 в сыворотке крови больных раком и доброкачественными заболеваниями эндометрия было статистически значимо повышено, а содержание ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1 снижено по сравнению с контролем (табл. 1). Наиболее выраженное увеличение обнаружено для ММП-7: в 2,6 раза по сравнению с контролем у больных раком и в 2,7 раза у пациенток с доброкачественными изменениями эндометрия. При построении ROC-кривой определен пороговый уровень ММП-7 (3,5 нг/мл) с хорошим соотношением чувствительности и специфичности выявления рака эндометрия (рисунок): соответственно 88 и 87%. Однако ни этот, ни какой-либо другой пороговый уровень не позволяет проводить дифференциальный диагноз между доброкачественными и злокачественными поражениями эндометрия. Чувствительность выявления доброкачественных заболеваний при пороговом уровне ММП-7, равном 3,5 нг/мл, составляет 93%.

Уровень ТИМП-2 в сыворотке крови больных раком был повышен всего в 1,6 раза, у пациенток с доброкачественными заболеваниями – в 1,2 раза по сравнению с контролем. Вместе с тем только для этого показателя выявлено



ROC-кривая для оценки диагностических характеристик ММП-7 в сыворотке крови при сравнении группы больных раком эндометрия и группы контроля



Таблица 2. Содержание (нг/мл) матричных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевых ингибиторов 1-го и 2-го типа в сыворотке крови больных различными доброкачественными заболеваниями эндометрия

Заболевание	n	ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Полип	28	426 322–602	6,1 5,2–7,4	977 803–1103	279 256–308	71,6 62,8–88,5
Гиперплазия	19	409 311–534	5,7 4,1–7,0	833 682–1175	290 247–323	73,6 54,7–94,2
Атипическая гиперплазия	6	372 357–377	4,0 2,9–6,3	744 691–980	223 197–223	118 103–119

ММП – матричная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа, ТИМП-2 – тканевой ингибитор 2-го типа, n – количество пациентов

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей

статистически значимое, но незначительное (в 1,3 раза; $p < 0,05$) увеличение у больных раком эндометрия по сравнению с пациентами с доброкачественными заболеваниями. Снижение уровней желатиназ и ТИМП-1 у больных раком эндометрия по сравнению с контролем также не превышало 1,2–1,3 раза, хотя уровни ММП-9 и ТИМП-1 у больных раком были статистически значимо, но незначительно ниже, чем у пациенток с доброкачественными заболеваниями эндометрия.

Нельзя не отметить, что мы обнаружили статистически значимое снижение уровней ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови больных раком эндометрия, несмотря на то, что в ряде публикаций описано увеличение экспрессии этих протеаз в ткани рака по сравнению с неизменным эндометрием [11, 16, 17]. На наш взгляд, это указывает на отсутствие четкой взаимосвязи между экспрессией и секрецией этих протеаз опухолевыми клетками и их уровнем в циркулирующей крови, который является результирующей различных процессов, происходящих в организме.

Среди женщин с доброкачественными заболеваниями эндометрия у 28 диагностированы полипы, у 19 обычная и у 6 атипическая гиперплазия. Статистически значимых различий сывороточных уровней исследованных маркеров между этими тремя подгруппами не выявлено (табл. 2). При этом у пациенток с атипической гиперплазией эндометрия были самые низкие уровни ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1, а также ММП-7. В то же время уровень ТИМП-2 в сыворотке крови больных этой подгруппы был наиболее высоким.

Далее оценили взаимосвязь уровней изучаемых ММП и ТИМП в сыворотке крови с основными клинико-морфологическими

характеристиками рака эндометрия, в первую очередь с показателями его распространенности (табл. 3). Достоверных тенденций к увеличению или уменьшению уровней маркеров в зависимости от увеличения стадии заболевания по классификации FIGO не выявлено. Не обнаружено и достоверной взаимосвязи с показателями местной распространенности процесса – максимальным размером опухоли и глубиной ее инвазии в миометрий. Можно отметить только тенденцию к повышению уровня ММП-7 в сыворотке крови при увеличении глубины инвазии в миометрий. При опухолях, прорастающих весь миометрий, наблюдаются самые высокие показатели концентрации ММП-2, ТИМП-1 и ТИМП-2. В то же время у больных с отдаленными метастазами уровни ММП-7, ММП-9 и ТИМП-1 достоверно выше, чем у пациенток без метастазов.

По гистологическому строению большинство опухолей представляли собой умеренно (39) или высокодифференцированные (37) эндометриоидные аденокарциномы, у 11 пациенток диагностированы низкодифференцированные эндометриоидные аденокарциномы. Серозные и недифференцированные аденокарциномы были представлены единичными наблюдениями. Сывороточные концентрации большинства исследованных маркеров достоверно не зависели от степени дифференцировки эндометриоидного рака (табл. 4). Исключение составляет ММП-9, уровень которой был статистически значимо выше при низкодифференцированных опухолях, чем при умеренно и высокодифференцированных ($p < 0,05$). Можно отметить также тенденцию к снижению уровня ММП-2 при уменьшении степени дифференцировки эндометриоидной аденокарциномы и высокий (120 нг/мл) уровень ТИМП-2 при низкодифференцированном раке.

Как уже было отмечено, лишь единичные публикации посвящены оценке содержания ММП и ТИМП в сыворотке крови больных раком эндометрия. Так, в работе [26] изучали уровень ММП-2 в сыворотке крови 30 больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки и распространенности опухоли. По данным этих авторов, уровень маркера при II–IV стадии был выше, чем при I, но не зависел ни от глубины инвазии опухоли в миометрий, ни от степени ее дифференцировки. М. Nonkavuori и соавт. [27] определили исходные (при постановке диагноза) уровни ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови 93 больных эндометриоидным раком, разделив

**Таблица 3.** Содержание (нг/мл) матричных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевых ингибиторов 1-го и 2-го типа в сыворотке крови больных раком эндометрия в зависимости от основных показателей распространенности опухоли

Показатель распространенности	n	ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Стадия						
Ia	72	469 356–662	5,5 4,2–7,2	749 579–977	245 209–282	98,6 66,8–127
Ib	11	596 464–907	6,2 4,4–11,3	818 492–1054	225 208–256	57,2 48,3–118
II	5	369 263–453	4,9 3,4–5,4	676 549–1008	211 204–231	115 64,7–120
III–IV	5	361 268–572	7,1 5,0–13,4	1107 737–1320	246 227–253	55,3 54,6–107
<i>p</i>		$p_{Ib-II} < 0,05$	$p_{Ib-II} < 0,05$	Все $> 0,1$	Все $> 0,1$	Все $> 0,1$
Максимальный размер опухоли, см						
< 1,5	14	469 353–683	4,7 4,1–6,0	662 501–961	238 217–267	105 67,3–119
1,5–< 3	15	484 387–712	5,4 3,3–8,8	676 630–1008	211 166–232	101 80,1–134
3–< 3,5	11	469 334–607	5,7 4,5–7,2	779 585–993	227 177–291	49,0 37,2–93,1
≥ 3,5	17	437 268–670	5,8 4,4–9,0	859 704–1320	259 221–286	112 98,3–139
Инвазия в миометрий						
карцинома <i>in situ</i>	6	374 238–572	4,6 3,3–5,0	648 440–807	225 184–276	102 64,7–121
без инвазии в миометрий	12	504 374–647	5,8 4,4–7,4	676 461–850	259 224–262	59,2 46,3–112
менее ½ миометрия	52	469 344–661	5,1 4,2–6,8	794 591–1008	232 201–268	100 58,6–131
более ½ миометрия	21	464 359–670	6,2 5,4–9,0	859 652–1082	232 221–264	96,0 70,6–115
весь миометрий	3	761 387–1077	7,1 2,2–15,7	666 593–1488	360 215–840	159 34,7–147
Отдаленные метастазы (M)						
M ₀	85	479 353–674	5,4 4,2–7,1	748 527–987	235 208–268	97,8 57,2–121
M+	9	398 361–469	7,1 5,6–13,4	1049 737–1320	259 227–348	70,6 54,6–112
<i>p</i>		$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,01$	$> 0,1$

ММП – матричная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа, ТИМП-2 – тканевой ингибитор 2-го типа, n – количество пациентов

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей



Таблица 4. Содержание (нг/мл) матричных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевых ингибиторов 1-го и 2-го типа в сыворотке крови больных раком эндометрия в зависимости от степени дифференцировки эндометриоидного рака

Гистологическое строение	n	ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Высокодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома (группа 1)	37	505 359–674	5,6 4,4–7,6	750 527–967	261 211–291	94,9 49,0–118
Умеренно дифференцированная эндометриоидная аденокарцинома (группа 2)	39	459 360–638	5,6 4,2–7,2	712 515–994	232 198–264	97,8 60,1–121
Низкодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома (группа 3)	11	361 261–464	4,5 3,7–6,0	1009 737–1488	231 225–318	120 76,3–147
<i>p</i> (тест Манна – Уитни)		Все > 0,1	Все > 0,1	$p_{1-3}, p_{2-3} < 0,05$	Все > 0,1	Все > 0,1

ММП – матричная металлопротеиназа, ТИМП-1 – тканевой ингибитор 1-го типа, ТИМП-2 – тканевой ингибитор 2-го типа, n – количество пациентов

Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей

их на группы с высоким и низким риском рецидивирования на основе общепринятых прогностических факторов. Только высокий уровень ТИМП-1 (более 576 нг/мл) оказался фактором неблагоприятного прогноза в однофакторном, но не в многофакторном анализе. Нужно отметить, что в обоих исследованиях отсутствовали группы здорового и патологического (пациентки с доброкачественными изменениями эндометрия) контроля. Публикаций, посвященных исследованию уровня ММП-7 в сыворотке крови больных раком эндометрия, не обнаружено. По нашим данным, повышение уровня данного маркера в крови больных характерно для различных злокачественных новообразований [28].

Таким образом, в настоящее время вопрос о диагностическом и прогностическом значении определения уровней различных ММП и ТИМП в сыворотке крови больных раком эндометрия представляется спорным и требует дальнейшего изучения.

Заключение

При сравнительном исследовании содержания нескольких ММП и их тканевых ингибиторов в сыворотке крови больных раком, полипами, гиперплазией эндометрия, а также здоровых доноров продемонстрировано значимое увеличение уровней ММП-7 и ТИМП-2 как при раке, так и при доброкачественных изменениях. Наиболее значительным по отношению к контролю было увеличение уровня ММП-7, однако сывороточные концентрации этого маркера были практически одинаковыми у больных

раком и доброкачественными заболеваниями. Уровни ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1, напротив, были снижены у пациенток с заболеваниями эндометрия по сравнению с контролем; уровни ММП-9 и ТИМП-1 были также ниже у больных раком, чем у больных полипами и гиперплазией эндометрия. Значимой взаимосвязи уровней исследованных маркеров с показателями распространенности, гистологическим строением и степенью дифференцировки рака эндометрия не обнаружено. Не выявлено также различий между содержанием маркеров в сыворотке крови пациенток с полипами и гиперплазией эндометрия различной степени тяжести. Таким образом, приходится констатировать, что исследованные нами ММП и ТИМП нельзя рассматривать в качестве потенциальных диагностических маркеров рака эндометрия. Тем не менее эти маркеры, в первую очередь ММП-7, могут быть полезны для мониторинга пациентов, прогноза заболевания и оценки чувствительности к таргетной терапии.

С фундаментальной точки зрения полученные результаты стали дополнительным подтверждением того, что увеличение экспрессии ММП-7, которая помимо разрушения компонентов внеклеточного матрикса участвует в процессинге некоторых биологически важных молекул клеточной поверхности и в отличие от других ММП синтезируется преимущественно опухолевыми клетками, является универсальным изменением в системе ММП-зависимого протеолиза, характерным для опухолей различного гистогенеза. ☺

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.



Литература

1. Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.017.
2. Wang FQ, So J, Reierstad S, Fishman DA. Matrilysin (MMP-7) promotes invasion of ovarian cancer cells by activation of progelatinase. *Int J Cancer*. 2005;114(1):19–31.
3. Määttä M, Soini Y, Liakka A, Autio-Harminen H. Localization of MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2, and TIMP-3 messenger RNA in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium. Enhanced expression by endometrial adenocarcinomas is associated with low differentiation. *Am J Clin Pathol*. 2000;114(3):402–11.
4. Inoue Y, Abe K, Obata K, Yoshioka T, Ohmura G, Doh K, Yamamoto K, Hoshiai H, Noda K. Immunohistochemical studies on matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and type-IV collagen in endometrial carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res*. 1997;23(2):139–45.
5. Iurlaro M, Loverro G, Vacca A, Cormio G, Ribatti D, Minischetti M, Ria R, Bruno M, Selvaggi L. Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 correlate with upgrading and myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Eur J Clin Invest*. 1999;29(9):793–801.
6. Moser PL, Hefler L, Tempfer C, Neunteufel W, Kieback DG, Gitsch G. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 2, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP 2) in stage I and II endometrial cancer. *Anticancer Res*. 1999;19(3B):2365–7.
7. Ueno H, Yamashita K, Azumano I, Inoue M, Okada Y. Enhanced production and activation of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human endometrial carcinomas. *Int J Cancer*. 1999;84(5):470–7.
8. Graesslin O, Cortez A, Fauvet R, Lorenzato M, Birembaut P, Daraï E. Metalloproteinase-2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: a clinical-pathological correlation study. *Ann Oncol*. 2006;17(4):637–45.
9. Tunuguntla R, Ripley D, Sang QX, Chegini N. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-3 and -4 in benign endometrium and endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;89(3):453–9.
10. Erdemoglu E, Güney M, Karahan N, Mungan T. Immunohistochemical expression of MMP-2, MMP-9 and COX-2 in Stage IA malignant polyps of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(5):444–9.
11. Shaco-Levy R, Sharabi S, Benharroch D, Piura B, Sion-Vardy N. Matrix metalloproteinases 2 and 9, E-cadherin, and beta-catenin expression in endometriosis, low-grade endometrial carcinoma and non-neoplastic eutopic endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;139(2):226–32. doi: 10.1016/j.ejogrb.2008.01.004.
12. Weigel MT, Krämer J, Schem C, Wengers A, Alkatout I, Jonat W, Maass N, Mundhenke C. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012;160(1):74–8. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.09.040.
13. Aglund K, Rauvala M, Puistola U, Angström T, Turpeenniemi-Hujanen T, Zackrisson B, Stendahl U. Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP-9) in endometrial cancer-MMP-9 correlates to the grade and the stage. *Gynecol Oncol*. 2004;94(3):699–704.
14. Honkavuori M, Talvensaaari-Mattila A, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. MMP-2 expression associates with CA 125 and clinical course in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2007;104(1):217–21.
15. Honkavuori-Toivola M, Santala M, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Talvensaaari-Mattila A. Combination of strong MMP-2 and weak TIMP-2 immunostainings is a significant prognostic factor in endometrial carcinoma. *Dis Markers*. 2013;35(4):261–6.
16. Talvensaaari-Mattila A, Santala M, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T. Prognostic value of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Anticancer Res*. 2005;25(6B):4101–5.
17. Yuan Y, Shen N, Yang SY, Zhao L, Guan YM. Extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase-2 overexpression is associated with loss of hormone receptor expression and poor prognosis in endometrial cancer. *Oncol Lett*. 2015;10(1):342–8.
18. Di Nezza LA, Misajon A, Zhang J, Jobling T, Quinn MA, Ostör AG, Nie G, Lopata A, Salmons LA. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. *Cancer*. 2002;94(5):1466–75.
19. Grybos A, Bar J. The relationships between the immunoexpression of KAI1, MMP-2, MMP-9 and steroid receptors expression in endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol*. 2014;52(3):187–94. doi: 10.5603/FHC.2014.0022.
20. Karahan N, Güney M, Baspinar S, Oral B, Kapucuoglu N, Mungan T. Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2007;28(3):184–8.
21. Puljiz M, Puljiz Z, Vucemilo T, Ramić S, Knezević F, Culo B, Alvir I, Tomica D, Danolić D. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in endometrial cancer. *Coll Antropol*. 2012;36(4):1367–72.
22. Pilka R, Norata GD, Domanski H, Andersson C, Hansson S, Eriksson P, Casslén B. Matrix metalloproteinase-26 (matrilysin-2) expression is high in endometrial hyperplasia and decreases with loss of histological differentiation in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2004;94(3):661–70.
23. Obokata A, Watanabe J, Nishimura Y, Arai T, Kawaguchi M, Kuramoto H. Significance of matrix metalloproteinase-7 [correction of matrix metalloproteinase-2], -11 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Anticancer Res*. 2007;27(1A):95–105.
24. Yi YC, Chou PT, Chen LY, Kuo WH, Ho ES, Han CP, Yang SF. Matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) polymorphism is a risk factor for endometrial cancer susceptibility. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(3):337–44. doi: 10.1515/CCLM.2010.082.
25. Park HI, Ni J, Gerkema FE, Liu D, Belozero V, Sang QX. Identification and characterization of human endometase (Matrix metalloproteinase-26) from endometrial tumor. *J Biol Chem*. 2000;275(27):20540–4.
26. Adamiak A, Postawski K, Semczuk A, Rechnerberger T, Jakowicki JA. Prognostic value of serum MMP-2 level in uterine cancer affected women. *Ginekol Pol*. 2000;71(9):1198–201.
27. Honkavuori M, Talvensaaari-Mattila A, Puistola U, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. High serum TIMP-1 is associated with adverse prognosis in endometrial carcinoma. *Anticancer Res*. 2008;28(5A):2715–9.
28. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;5(5):16–27.



References

- Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbam-cr.2009.09.017.
- Wang FQ, So J, Reierstad S, Fishman DA. Matrilysin (MMP-7) promotes invasion of ovarian cancer cells by activation of progelatinase. *Int J Cancer*. 2005;114(1):19–31.
- Määttä M, Soini Y, Liakka A, Autio-Harminen H. Localization of MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2, and TIMP-3 messenger RNA in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium. Enhanced expression by endometrial adenocarcinomas is associated with low differentiation. *Am J Clin Pathol*. 2000;114(3):402–11.
- Inoue Y, Abe K, Obata K, Yoshioka T, Ohmura G, Doh K, Yamamoto K, Hoshiai H, Noda K. Immunohistochemical studies on matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and type-IV collagen in endometrial carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res*. 1997;23(2):139–45.
- Iurlaro M, Loverro G, Vacca A, Cormio G, Ribatti D, Minischetti M, Ria R, Bruno M, Selvaggi L. Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 correlate with up-grading and myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Eur J Clin Invest*. 1999;29(9):793–801.
- Moser PL, Hefler L, Tempfer C, Neunteufel W, Kieback DG, Gitsch G. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 2, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP 2) in stage I and II endometrial cancer. *Anticancer Res*. 1999;19(3B):2365–7.
- Ueno H, Yamashita K, Azumano I, Inoue M, Okada Y. Enhanced production and activation of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human endometrial carcinomas. *Int J Cancer*. 1999;84(5):470–7.
- Graesslin O, Cortez A, Fauvet R, Lorenzato M, Birembaut P, Darai E. Metalloproteinase-2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: a clinical-pathological correlation study. *Ann Oncol*. 2006;17(4):637–45.
- Tunuguntla R, Ripley D, Sang QX, Chegini N. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-3 and -4 in benign endometrium and endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;89(3):453–9.
- Erdemoglu E, Güney M, Karahan N, Mungan T. Immunohistochemical expression of MMP-2, MMP-9 and COX-2 in Stage IA malignant polyps of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(5):444–9.
- Shaco-Levy R, Sharabi S, Benharroch D, Piura B, Sion-Vardy N. Matrix metalloproteinases 2 and 9, E-cadherin, and beta-catenin expression in endometriosis, low-grade endometrial carcinoma and non-neoplastic eutopic endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;139(2):226–32. doi: 10.1016/j.ejogrb.2008.01.004.
- Weigel MT, Krämer J, Schem C, Wenners A, Alkatout I, Jonat W, Maass N, Mundhenke C. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012;160(1):74–8. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.09.040.
- Aglund K, Rauvala M, Puistola U, Angström T, Turpeenniemi-Hujanen T, Zackrisson B, Stendahl U. Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP-9) in endometrial cancer-MMP-9 correlates to the grade and the stage. *Gynecol Oncol*. 2004;94(3):699–704.
- Honkavuori M, Talvensaaari-Mattila A, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. MMP-2 expression associates with CA 125 and clinical course in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2007;104(1):217–21.
- Honkavuori-Toivola M, Santala M, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T, Talvensaaari-Mattila A. Combination of strong MMP-2 and weak TIMP-2 immunostainings is a significant prognostic factor in endometrial carcinoma. *Dis Markers*. 2013;35(4):261–6.
- Talvensaaari-Mattila A, Santala M, Soini Y, Turpeenniemi-Hujanen T. Prognostic value of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Anticancer Res*. 2005;25(6B):4101–5.
- Yuan Y, Shen N, Yang SY, Zhao L, Guan YM. Extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase-2 overexpression is associated with loss of hormone receptor expression and poor prognosis in endometrial cancer. *Oncol Lett*. 2015;10(1):342–8.
- Di Nezza LA, Misajon A, Zhang J, Jobling T, Quinn MA, Ostör AG, Nie G, Lopata A, Salmons LA. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. *Cancer*. 2002;94(5):1466–75.
- Grybos A, Bar J. The relationships between the immunexpression of KAI1, MMP-2, MMP-9 and steroid receptors expression in endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol*. 2014;52(3):187–94. doi: 10.5603/FHC.2014.0022.
- Karahan N, Güney M, Baspinar S, Oral B, Kapucuoglu N, Mungan T. Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2007;28(3):184–8.
- Puljiz M, Puljiz Z, Vucemilo T, Ramić S, Knezević F, Culo B, Alvir I, Tomica D, Danolić D. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in endometrial cancer. *Coll Antropol*. 2012;36(4):1367–72.
- Pilka R, Norata GD, Domanski H, Andersson C, Hansson S, Eriksson P, Casslén B. Matrix metalloproteinase-26 (matrilysin-2) expression is high in endometrial hyperplasia and decreases with loss of histological differentiation in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2004;94(3):661–70.
- Obokata A, Watanabe J, Nishimura Y, Arai T, Kawaguchi M, Kuramoto H. Significance of matrix metalloproteinase-7 [correction of matrix metalloproteinase-2], -11 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Anticancer Res*. 2007;27(1A):95–105.
- Yi YC, Chou PT, Chen LY, Kuo WH, Ho ES, Han CP, Yang SF. Matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) polymorphism is a risk factor for endometrial cancer susceptibility. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(3):337–44. doi: 10.1515/CCLM.2010.082.
- Park HI, Ni J, Gerkema FE, Liu D, Belozzerov VE, Sang QX. Identification and characterization of human endometase (Matrix metalloproteinase-26) from endometrial tumor. *J Biol Chem*. 2000;275(27):20540–4.
- Adamiak A, Postawski K, Semczuk A, Rechnerberger T, Jakowicki JA. Prognostic value of serum MMP-2 level in uterine cancer affected women. *Ginek Pol*. 2000;71(9):1198–201.
- Honkavuori M, Talvensaaari-Mattila A, Puistola U, Turpeenniemi-Hujanen T, Santala M. High serum TIMP-1 is associated with adverse prognosis in endometrial carcinoma. *Anticancer Res*. 2008;28(5A):2715–9.
- 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;(5):16–27. Russian.



Clinical prospects of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors study in blood serum of patients with endometrial cancer and benign endometrial lesions

Gershtein E.S.¹ • Mushtenko S.V.² • Kuznetsov R.E.³ •
Ermilova V.D.¹ • Levchenko N.Ye.¹ • Kushlinskii N.E.¹

Background: Despite comparatively favorable clinical course and satisfactory prognosis of endometrial cancer, the increase of its incidence observed in the last years both in this country and abroad requires the development of new approaches to early diagnostics, prognostic assessment and the choice of personalized postoperative management. Therefore, exploration of biological markers for fundamental tumor characteristics, such as invasion, metastasizing, proliferative activity, sensitivity to endogenous and exogenous regulators, are still on the agenda. The family of matrix metalloproteinases (MMPs) degrading the majority of extracellular matrix components and involved in all stages of tumor progression comprise a rich source of such markers. **Aim:** Comparative evaluation of MMP-2, 7, 9 and their type 1 and 2 tissue inhibitors (TIMP) levels in the serum of patients with endometrial cancer and benign endometrial disease and in healthy women, and the analysis of its associations with the main clinical and pathologic characteristics of cancer for evaluation of their potential diagnostic and prognostic value.

Materials and methods: Ninety four patients with endometrial cancer and 53 women with benign endometrial lesions (28 with polyps, 25 with various degree of hyperplasia) were enrolled into the study. The age of cancer patients was 36 to 78 (median 60) years, of those with benign lesions, 20 to 79 (median 54) years. The control group involved 77 practically healthy women aged 19 to 75 (median 46) years. The concentrations of the markers studied were measured by direct enzyme immunoassay (ELISA) kits (Quantikine, R&D Systems, USA). **Results:** A significant increase of MMP-7 and TIMP-2 levels was demonstrated both in cancer patients (median values 5.5 and 96.9 ng/ml, respectively) and in those with benign endometrial lesions (median values 5.7 and 73.2 ng/ml, respectively) as compared to the control (median

values 2.1 and 60.7 ng/ml, respectively). The ROC curve allowed to establish a cutoff level for MMP-7 (3.5 ng/ml) with good sensitivity/specificity ratio for endometrial cancer (88% and 87% respectively); however, it did not allow for differentiating between benign and malignant endometrial lesions. On the contrary, MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 levels were 1.2-1.3-fold decreased in patients with cancer and benign endometrial diseases as compared to the control; MMP-9 and TIMP-1 levels in cancer patients were also lower than in those with endometrial polyps and hyperplasia. There were no significant associations between the levels of the markers studied and the indices of progression, histological type and grade of endometrial cancer. Also, no differences between the marker levels in serum of patients with polyps or various endometrial hyperplasias were identified. **Conclusion:** MMPs and TIMPs assessed in this study cannot be considered as potential diagnostic markers of endometrial cancer; however, they might be useful for disease monitoring, prognosis assessment and evaluation of sensitivity to targeted therapy.

Key words: matrix metalloproteinase 2, 7, 9, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases 1, 2, serum, endometrial cancer, endometrial polyp, endometrial hyperplasia

For citation: Gershtein ES, Mushtenko SV, Kuznetsov RE, Ermilova VD, Levchenko NYe, Kushlinskii NE. Clinical prospects of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the serum of patients with endometrial cancer and benign endometrial disease. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017;45(4):280–8. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-280-288

Received 28 April 2017; Accepted 18 May 2017

Gershtein Elena S. – Doctor of Biol. Sci., Professor, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Biochemistry¹

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59.

E-mail: esgershtein@gmail.com

Mushtenko Svetlana V. – Postgraduate Student, Chair of Oncology²

Kuznetsov Roman E. – MD, PhD, Head of Department of Gynecology³

Ermilova Valeriya D. – MD, PhD, Leading Researcher, Department of the Pathologic Anatomy of Human Tumors¹

Levchenko Natal'ya Ye. – MD, PhD, Professor, Head of Department of Oncogynecology¹

Kushlinskii Nikolay E. – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Clinical Biochemistry Laboratory¹

¹ N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

² Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov; 20–1 Delegatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation

³ S.P. Botkin City Clinical Hospital of the Moscow Public Health Department; 5 Botkinskiy proezd, Moscow, 125284, Russian Federation

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.