

# МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ИХ ТКАНЕВЫЕ ИНГИБИТОРЫ В КЛИНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ И ПРОГНОЗЕ РАКА ЯИЧНИКОВ

Е.С. Герштейн<sup>1</sup>, доктор биологических наук, Д.Н. Кушлинский<sup>2</sup>,  
Л.В. Адамян<sup>2</sup>, академик РАМН, профессор, И.В. Терешкина<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук,  
К.П. Лактионов<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор

<sup>1</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН,

<sup>2</sup>Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, Москва

E-mail: biochimia@mtu-net.ru

*Представлен анализ публикаций, посвященных изучению роли различных представителей семейства матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов в дифференциальной диагностике, прогнозировании клинического течения и разработке новых методов терапии рака яичников. Признано, что наиболее перспективными маркерами для дифференциальной диагностики и прогноза рака яичников можно считать желатиназы/коллагеназы коллагена IV – ММП-9 и ММП-2, матрилизин (ММП-7), а также тканевый ингибитор ММП 1 типа (ТИМП-1) и мембраноассоциированную ММП-1. Существующие методы подавления активности ММП, в том числе использование специфических ингибиторов, позволяют снизить инвазивность клеток рака яичников in vitro, но требуют дальнейшей доработки и усовершенствования для внедрения в клинику.*

**Ключевые слова:** матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ, рак яичников, диагностика, прогноз, молекулярно-направленная терапия

## MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN OVARIAN CANCER CLINICAL COURSE AND PROGNOSIS

E.S. Gershtein<sup>1</sup>, D.N. Kushlinsky<sup>2</sup>, L.V. Adamyan<sup>2</sup>, I.V. Tereshkina<sup>1</sup>, K.P. Laktionov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

<sup>2</sup>Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Moscow

*Publications devoted to the role of various representatives of matrix metalloproteinases (MMPs) family and their tissue inhibitors in ovarian cancer in differential diagnostics, prognosis and in the development of new treatment modalities are critically analyzed in this review. It is concluded that gelatinases/collagen IV collagenases – MMP-9 and MMP-2, matrilysin (MMP-7), type 1 tissue MMP inhibitor (TIMP-1) and membrane-type MMP-1 can be considered as the most perspective markers for differential diagnostics and ovarian cancer prognosis. Existing methods of suppression of MMPs activity including application of specific inhibitors permit to reduce ovarian cancer cells invasiveness in vitro, but need further refinement for introduction into clinical practice.*

**Key words:** matrix metalloproteinases, tissue matrix metalloproteinase inhibitors, ovarian cancer, diagnostics, prognosis, molecular targeted therapy

Способность к инвазии окружающих тканей и метастазированию в отдаленные органы – одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей. На всех этапах инвазии и метастазирования опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом (ВКМ), поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеазами. Последние участвуют также в опухолевом ангиогенезе, способствуя распространению новых капиллярных сосудов.

Деградация ВКМ – неотъемлемая часть не только опухолевой прогрессии, но и многих физиологических процессов, например, развития, роста и регенерации ткани.

Но в процессе канцерогенеза регуляторные пути, влияющие на деградацию ВКМ, как правило, нарушаются и происходит патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования.

Известно, что во все этапы прогрессирования опухолевого процесса вовлечены матриксные металлопротеиназы (ММП) – семейство, состоящее из более чем 20 секретируемых или связанных с поверхностью клетки цинкзависимых эндопептидаз, способных к деградациям практически всех компонентов ВКМ [1]. В зависимости от структурно-функциональных особенностей и субстратной специфичности ММП делят на несколько подсемейств. Основными подсемействами ММП являются коллагеназы широкого

спектра действия (например, ММП-1, 8, 13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (ММП-2 и 9), стромелизины (например, ММП-3 и 10), матрилизины (ММП-7, ММП-26), и ММП мембранного типа [2, 3].

Активация ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (ТИМП), которые соединяются с цинксвязывающими участками активных ММП в эквимольном соотношении. ТИМП образуют прочные комплексы как с активными формами ММП, так и с их секретруемыми проферментами, регулируя посредством этого их активность [4]. Семейство ТИМП состоит из 4 структурно родственных белков, 3 из которых (ТИМП-1, 2 и 4) секретируются в растворимой форме, а 1 (ТИМП-3) связан с ВКМ. ТИМП индуцируют изменения морфологии клетки, стимулируют рост некоторых типов клеток, участвуют в стероидогенезе и развитии герминогенных клеток обоих полов. По своей структуре ТИМП высоко специфичны к активному связывающему участку ММП (по принципу ключ-замок) и ингибируют весь спектр ММП.

Роль ММП в прогрессии и метастазировании опухолей впервые определена L. Liotta и соавт. в начале 1980-х годов [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 ММП-2 и(или) ММП-9. Первоначально предполагалось, что опухолевые клетки самостоятельно вырабатывают ММП, а стромальные – индуцируют секрецию ММП опухолями. Позднее была сформулирована концепция, согласно которой стромальные клетки сами могут экспрессировать ММП. Анализ методом гибридизации *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют ММП даже чаще, чем опухолевые [6, 7]. Выделение многих ММП клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки, является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако есть исключения, например: матрилизин (ММП-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли; в случае ММП-2 известно, что ее мРНК продуцируется преимущественно стромальными клетками, но сам фермент секретируется и активируется на границе опухолевой и неизменной ткани [8].

Все члены семейства ММП способны гидролизовать основные белковые компоненты ВКМ, включая протеогликаны, ламинин, фибронектин, желатин, коллаген, энтактин, тенаскин, витронектин и др. Кроме того, функцией ММП может быть активация других металлопротеиназ, усиливающая процесс деградации внеклеточного матрикса, в результате чего опухолевая клетка может свободно мигрировать в строму и дальше – в кровеносное русло с последую-

щей экстравазацией, основывая новый метастатический очаг. Опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом на всех этапах инвазии и метастазирования. Регуляторные пути, влияющие на процессы деградации ВКМ, в процессе канцерогенеза, как правило, нарушаются; может также отмечаться патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования.

В экспериментальных исследованиях доказана корреляционная взаимосвязь повышения экспрессии ММП опухолевыми и(или) стромальными клетками с прогрессией, метастазированием и ангиогенезом [9, 10]. В ряде ретроспективных клинических исследований отмечена повышенная экспрессия различных ММП в первичном опухолевом очаге и(или) метастазах, ассоциированная со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с плохим прогнозом и низкой выживаемостью пациентов с различными злокачественными новообразованиями [3, 8, 11]. Продемонстрировано, что повышение уровня ММП в сыворотке (плазме крови) онкологических больных коррелирует с метастатическим процессом и может рассматриваться как фактор плохого прогноза [12–14]. В то же время известно, что растворимые ММП в периферической крови находятся в основном в форме профермента или в комплексе с природными ингибиторами – такими, как ТИМП или  $\alpha 2$ -макроглобулин [15], поэтому повышенная экспрессия ММП часто сопровождается увеличением экспрессии соответствующих ТИМП [16], а функциональное значение циркулирующих в периферической крови ММП в прогрессии опухоли до конца не ясно.

#### КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ММП И ТИМП ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯИЧНИКОВ

Рак яичников – одна из наиболее инвазивных злокачественных опухолей, причем в большинстве случаев заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине. Трудности ранней диагностики и высокий метастатический и инвазивный потенциал определяют необходимость углубленного изучения механизмов распространения рака яичников, знание которых могло бы стать основой для создания новых препаратов, целенаправленно воздействующих на процессы метастазирования и инвазии. В этой связи исследование ММП при раке яичников – одно из наиболее клинически перспективных направлений в области изучения роли этой протеолитической системы при различных опухолях человека.

**Желатиназы/IV коллагеназы: ММП-2 (72-kDa коллагеназа коллагена IV типа, желатиназа А) и ММП-9 (92-kDa коллагеназа коллагена IV типа, желатиназа В)** наиболее известны как протеазы, ги-

дролизирующие коллаген IV типа – основной компонент базальной мембраны эпителиальных опухолей, т.е. специфические коллагеназы, но они также разрушают другие существенные компоненты ВКМ и обладают желатинолитической (желатиназной) активностью.

Регуляция активности коллагеназ – сложный и до конца не изученный процесс, важнейшую роль в котором играют ТИМП. В экспериментальных исследованиях продемонстрирована важная роль ММП-2 и ММП-9 в формировании инвазивного потенциала клеток рака яичников [17, 18], причем индукция ММП служит одним из ключевых механизмов проявления проинвазивных эффектов эпидермального [19, 20], и  $\beta$ -трансформирующего фактора роста [21–23]. Показано также, что эти протеазы находятся в комплексном взаимодействии с ключевым активатором ангиогенеза – фактором роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF): с одной стороны, коллагеназы индуцируют секрецию VEGF опухолевыми клетками, что способствует образованию асцита [24–26], с другой – секретлируемый опухолью VEGF регулирует экспрессию коллагеназ в строме, влияя на инвазивную способность опухоли [27, 28]. Активность ММП-2 и ММП-9 в культивируемых клетках рака яичников увеличивается и под действием гормонов стресса (катехоламинов), при этом в 2–3 раза возрастает инвазивность опухолевых клеток в тестах *in vitro* [29–31].

Следует отметить, что система ММП/ТИМП, и в первую очередь коллагеназы, играет ключевую роль в процессах ремоделирования внеклеточного матрикса, связанных с развитием фолликула в неизмененных яичниках [32]. ММП-2 и ММП-9, а также ТИМП-1, 2 и 3 локализуются 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 ММП/ТИМП 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 ММП и их тканевыми ингибиторами сдвинут в сторону увеличения активности ММП. В связи с этим ряд авторов предполагают важное значение активации ММП-2 и ММП-9 в нарушении атрезии фолликулов при этом заболевании [33–35].

В наиболее ранних клинико-лабораторных исследованиях, посвященных роли коллагеназ при раке и других новообразованиях яичников, изучали экспрессию и активность ММП в опухолях яичников различной злокачественности в сопоставлении с клинико-морфологическими характеристиками.

Так, М. Naylor и соавт. [36] оценивали экспрессию нескольких ММП, в том числе ММП-9, в биоптатах рака яичников методами зимографии и гибридизации *in situ*. В большинстве образцов были обнаружены соответствующие мРНК, локализовавшиеся преимущественно в стромальных участках, причем максимальная экспрессия наблюдалась в областях, смежных с областями скопления эпителиальных опухолевых клеток. Зимографически выявлено, что активность ММП-9 в биопсийных образцах рака яичников была значительно выше, чем в опухолях других локализаций, изученных этими авторами ранее, однако в отличие от других опухолей никакой корреляции между активностью ММП-9 и степенью дифференцировки рака яичников не обнаружено.

К. Sakata и соавт. [37] исследовали иммуногистохимически экспрессию ММП-9 и ММП-2, а также ММП мембранного типа 1 (MT1-ММП), ТИМП-1 и ТИМП-2 в эпителиальных опухолях яичников. Частота выявления всех исследованных белков (за исключением ТИМП-1 в карциномах яичников) была значительно выше, чем в пограничных и доброкачественных опухолях. Напротив, диффузное окрашивание на ТИМП-1 оказалось интенсивнее в доброкачественных и пограничных опухолях, чем при раке яичников. Во всех случаях выявления диффузного окрашивания на ММП-9 отмечено отсутствие экспрессии ТИМП-1. Диффузное окрашивание на ММП-9 было значительно выше в карциномах яичников с метастазами в лимфатические узлы, чем без таких метастазов. Авторы предположили, что повышенная экспрессия ММП-9, ММП-2, MT1-ММП и ТИМП-2, сопровождающаяся снижением экспрессии ТИМП-1, может способствовать более активному местному распространению рака яичников, а повышенная экспрессия ММП-9 совместно с низкой экспрессией ТИМП-1 – также и распространению опухолевых клеток по лимфатическим сосудам. В другом исследовании этих же авторов [38] продемонстрировано увеличение экспрессии ММП-9 и ММП-2 в клетках рака яичников, выделенных из асцитической жидкости, по сравнению с таковой в мезотелиальных клетках, полученных из асцита при доброкачественных перитонеальных изменениях.

В то же время К. Cai и соавт. [39], исследуя методами иммуногистохимического окрашивания, зимографии, Northern- и Western- blot-анализа биоптаты и различные культуры клеток опухолей яичников, обнаружили, что ММП-9 и ММП-2 чаще выявляются в пренеопластических тканях и клетках, чем в карциномах с уже установившимся злокачественным фенотипом. Они также не выявили взаимосвязи уровня экспрессии обеих ММП со стадией заболевания и степенью злокачественности рака яичников. Более того, ММП-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 рака яичников. Косвенно это предположение подтвердили Т. Paulsen и соавт. [40], исследовавшие иммуногистохимически пограничные серозные опухоли яичников 99 больных и показавшие, что интенсивное окрашивание первичной опухоли на ММП-2 достоверно чаще выявляется при наличии неинвазивных имплантатов, чем в их отсутствие (соответственно 76 и 53%). Роль опухолевой ММП-2 в качестве одного из регуляторов ранней метастазирования рака яичников в большой сальник подтверждена и в экспериментальных исследованиях на органотипических культурах и ксенографтах опухолей [18].

М. Maatta и соавт. [41, 42] сравнивали экспрессию ММП-9 и ММП-2, а также их ингибиторов 1 и 2 типа в 22 доброкачественных, 15 пограничных и 16 доброкачественных опухолях яичников. ММП-2 была обнаружена в 56% доброкачественных, 40% пограничных и 90% злокачественных опухолей, экспрессия остальных маркеров также была выше в ткани рака яичников, чем в доброкачественных и пограничных опухолях. На основании этих данных авторы пришли к заключению, что с точки зрения экспрессии коллагеназ и ТИМП пограничные опухоли яичников находятся ближе к доброкачественным новообразованиям, чем к злокачественным. Усиление экспрессии ММП-9 и ММП-2 при переходе от доброкачественных опухолей яичников к злокачественным продемонстрировали также В. Schmalfeld и соавт. [43].

М. Furuu и соавт. [44] исследовали содержание и активность ММП и ТИМП в содержимом и выстилающем эпителии кист при муцинозных опухолях яичников. Активность ММП-9 была выявлена во всех злокачественных и пограничных опухолях и в 7 из 15 аденом, при этом измеренное иммуноферментным методом содержание ММП-9 в кистозной жидкости оказалось достоверно выше при карциномах, чем при пограничных и доброкачественных опухолях яичников. Активность ММП-2 при различных муцинозных поражениях яичников не зависела от их злокачественности и была практически одинаковой, а содержание этой протеазы при злокачественных опухолях хотя и было выше, чем в доброкачественных и пограничных, различия не достигали статистической значимости. Авторы отметили также достоверное повышение уровня ТИМП-1 и ТИМП-2 в муцинозных карциномах яичников по сравнению с пограничными и доброкачественными новообразованиями. В другой работе эти же авторы приводят результаты исследования 24 серозных опухолей яичников (8 аде-

нокарцином, 2 пограничные опухоли и 14 аденом). Ими обнаружено достоверное повышение содержания ММП-9 и ММП-2 в кистозном содержимом аденокарцином по сравнению с серозными аденомами, при этом уровни ТИМП-1 и ТИМП-2 в злокачественных и доброкачественных новообразованиях не различались [45]. L. Huang и соавт. [46] методами иммуногистохимии и гибридизации *in situ* исследовали 90 эпителиальных опухолей яичников различной злокачественности и продемонстрировали достоверное увеличение экспрессии ММП-9 в серозных и муцинозных карциномах по сравнению с доброкачественными и пограничными опухолями. В противоположность другим авторам, они также показали, что уровень ТИМП-1 – ингибитора, образующего комплексы с активной формой ММП-9, был повышен как в злокачественных, так и в пограничных опухолях яичников по сравнению с доброкачественными новообразованиями.

Наибольший интерес представляют работы, в которых оценено значение различных ММП для прогноза рака яичников. Так, в одном из наиболее ранних исследований по этой проблеме В. Davidson и соавт. [47], определяя экспрессию ММП-2 и ММП-9 в первичных опухолях и метастазах 45 больных распространенным (III – IV стадия FIGO) раком яичников методом *in situ* гибридизации мРНК, показали, что высокий уровень экспрессии мРНК обеих коллагеназ в опухолевых клетках является фактором неблагоприятного прогноза безрецидивной и общей выживаемости. Они подтвердили эти данные в дальнейшем [48], 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 и соавт. [49], проанализировавших 292 образца эпителиального рака яичников. В этом исследовании показано, что ММП-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 ММП-9 и увеличивается доля таких клеток в строме. В соответствии с этим при однофакторном анализе в общей группе больных было продемонстрировано увеличение 10-летней выживаемости при высоком уровне экспрессии ММП-9 в опухоли и ее уменьшение – при высокой экспрессии этой протеазы в строме. Интересно, что при многофакторном анализе сохранилось только прогностическое значение уровня экспрессии ММП-9 в опухолевых клетках при I стадии заболевания по FIGO. Авторы предположили, что ММП-9 играет двойную роль в прогрессии рака яичников: препятствует распространению опухоли, если на-

ходится на эпителиальных клетках, и способствует ему, находясь на клетках стромы.

В аналогичном исследовании, включавшем 90 больных [7], высокая экспрессия ММП-9 была выявлена в опухолевых клетках в 97% случаев, в клетках стромы – в 70%, а ММП-2 – соответственно в 54 и 38% случаев. Высокая стромальная экспрессия обеих ММП была ассоциирована с такими показателями агрессивности процесса, как поздняя клиническая стадия, наличие асцита, положительный статус лимфатических узлов.

При однофакторном анализе по методу Каплана–Мейера показателем неблагоприятного прогноза общей выживаемости оказалась высокая экспрессия ММП-9 и ММП-2 не только в строме, но и в эпителиальных опухолевых клетках, однако при многофакторном тесте независимым прогностическим фактором оказалась только стромальная ММП-9. S. Ozalp и соавт. [50] ретроспективно исследовали опухоли 45 больных с эпителиальными опухолями яичников (30 – злокачественными и 15 – пограничными), оценивая интенсивность иммуногистохимического окрашивания на ММП-9 по 3-балльной шкале. Интенсивность окрашивания эпителиальных клеток в злокачественных опухолях была более высокой, чем в пограничных, а уровень экспрессии ММП-9 в строме злокачественных и пограничных опухолей достоверно не различался. Уровень экспрессии ММП-9 в эпителиальных клетках злокачественных опухолей не зависел от стадии заболевания и не влиял на выживаемость. В то же время, как и в описанных выше исследованиях, высокий уровень экспрессии ММП-9 в строме рака яичников оказался фактором неблагоприятного прогноза. A. Demeter и соавт. [51], оценивавшие зимографически желатиназную активность ММП-2 и ММП-9 в экстрактах опухолей, асцитической жидкости и сыворотке крови 27 больных с гистологически верифицированными эпителиальными опухолями яичников, показали, что только активность ММП-9 была достоверно повышена в опухолях и асците у пациентов, у которых в ходе 30-месячного наблюдения возник рецидив (в отличие от больных без рецидивов).

В большом ретроспективном исследовании [52] иммуногистохимически была оценена экспрессия ММП-2 в 295 первичных опухолях и 67 метастазах эпителиального рака яичников. Показано, что низкая экспрессия этой протеазы в опухолевых клетках ассоциирована с III степенью злокачественности и эндометриоидным типом опухоли. При многофакторном анализе высокая экспрессия ММП-2 в опухолевых клетках оказалась фактором благоприятного прогноза 10-летней безрецидивной выживаемости пациентов с эпителиальным раком яичников. В то же время M. Perigny и соавт. [53], исследовав ретроспективно опухоли и перитонеальные имплан-

таты 100 оперированных в 1990–2000 гг. больных раком яичников III стадии, показали, что гиперэкспрессия ММП-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 и соавт. [54], используя комплекс методов (полуколичественный РТ-ПЦР-анализ, иммуногистохимию, иммуноблоттинг), показали, что уровень экспрессии ММП-2 в карциномах яичников выше, чем в доброкачественных эпителиальных опухолях, не зависит от основных клинико-морфологических характеристик, но является фактором неблагоприятного прогноза.

Еще в одном исследовании [55] изучали экспрессию ММП-2, активатора ММП-2, МТ1-ММП и ТИМП-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. Однофакторный анализ показал, что высокая стромальная экспрессия ММП-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 ММП-2 не влиял на показатель смертности больных. При многофакторном анализе стромальная экспрессия ММП-2 влияла только на выживаемость больных эндометриоидным раком яичников и была для них наиболее значимым фактором прогноза.

**Матрилизин – матриксная металлопротеиназа 7 (ММП-7).** В подгруппу матрилизинов, помимо ММП-7, входит также относительно мало изученная ММП-26, называемая эндометазой или малой протеазой эндометрия. Помимо разрушения компонентов внеклеточного матрикса, ММП-7 участвует в процессинге некоторых биологически важных молекул клеточной поверхности – Fas-лиганда, про-ФНО- $\alpha$ , Е-кадгерина и др. Секретия ММП-7 клетками эпителиального рака яичников стимулируется VEGF и интерлейкином-8. В опытах *in vitro* показано, что ММП-7 увеличивает инвазивность клеток рака яичников, активируя про-ММП-2 и про-ММП-9 [56].

Впервые усиление экспрессии ММП-7 в опухолях яичников продемонстрировано Н. Tanimoto и соавт. [57], исследовавшими методом количественного ПЦР-анализа 32 карциномы, 12 пограничных опухолей и 10 неизмененных яичников. Уровень мРНК этой протеазы оказался повышенным примерно в 75% как злокачественных, так и пограничных опухолей. В дальнейшем эта же группа авторов [58], исследовав 44 муцинозных опухоли яичников, иммуногистохимически подтвердила увеличение

экспрессии матрилизина в клетках опухолей яичников, независимо от степени их злокачественности. ММП-7 обнаружена и в слизистом секрете этих опухолей. В то же время при анализе серозных опухолей яичников было показано, что казеинолитическая активность ММП-7 чаще выявляется в злокачественных опухолях (87%), чем в доброкачественных (28%) [45]. Интересно, что в отличие от описанных выше желатиназ ММП-7 не была обнаружена в строме рака яичников [6].

Наиболее репрезентативным стало исследование клинического значения ММП-7 при эпителиальном раке яичников [59], в котором иммуногистохимически были исследованы 284 образца первичной опухоли, 36 метастазов и 8 неизмененных яичников. В опухолях эндометриоидного строения большая площадь и высокая интенсивность окрашивания на ММП-7 были достоверно ассоциированы с положительным окрашиванием ядер клеток на  $\beta$ -катенин. Во всей группе в целом и в подгруппе неэндометриоидного рака низкая частота окрашивания на ММП-7 коррелировала с высокой степенью злокачественности опухоли, распространенной стадией заболевания и большим объемом остаточной первичной опухоли после операции. Оцененные ретроспективно 10-летняя безрецидивная и общая выживаемость больных оказались значительно лучше при высоком проценте интенсивного окрашивания на ММП-7, чем при низком, причем при многофакторном анализе этот показатель оказался независимым показателем благоприятного прогноза.

А. Асаг и соавт. [60] методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание ММП-7 в сыворотке крови 28 больных раком яичников, 2 – с пограничными опухолями, 10 женщин с доброкачественными гинекологическими заболеваниями и 30 здоровых женщин. Уровень ММП-7 у больных раком яичников был достоверно выше, чем в контрольной группе, и понижался после удаления опухоли, а при доброкачественных опухолях яичников был промежуточным между таковым в контроле и у больных раком (без достоверных различий с этими группами).

По данным исследователей [61], содержание ММП-7 в сыворотке крови является достаточно чувствительным (80%) и специфичным (87,5%) маркером для дифференциальной диагностики рака яичников, лишь незначительно уступая классическому показателю СА-125. Более того, сочетанное использование СА-125, ММП-7 и 2 других маркеров (хемокиновых лигандов CCL11 и CCL18) позволяет выявить ранний рак яичников с чувствительностью 94,4%.

По нашим данным, полученным при обследовании 84 первичных больных с различными новообразованиями яичников [62], ММП-7 является значимым серологическим маркером рака яичников. Чувствительность этого теста относительно контроля

при 95% специфичности составляет 78%. Уровень ММП-7 также положительно коррелирует с ключевыми показателями распространенности рака яичников: стадией заболевания, размером первичной опухоли, наличием и характером диссеминации по брюшине и метастазов в большом сальнике, наличием и количеством асцита. Предлагалось также включить уровень ММП-7 в комплексный мультианалитный тест для дифференциальной диагностики рака яичников [63].

**Матриксная металлопротеиназа мембранного типа 1 (MT1-ММП или ММП-14)** представляет собой трансмембранную коллагеназу. Активная MT1-ММП служит рецептором клеточной мембраны для формирования латентного комплекса ММП-2 (про-ММП-2) и тканевого ингибитора ТИМП-2. Она протеолитически активирует на клеточной поверхности про-ММП-2, разрушающую коллаген IV типа, а также сама гидролизует коллагены I, II и III типов и некоторые другие белки ВКМ. MT1-ММП задействована на многих этапах метастазирования рака яичников [64], в частности, она участвует в формировании и диссеминации по брюшине мультиклеточных агрегатов, сливающихся с поверхностью опухоли в брюшную полость [65]. Вместе с другими ММП она способствует формированию так называемого «коллагенолитического» инвазивного фенотипа рака яичников.

Имуногистохимически выраженная экспрессия MT1-ММП в эпителиальных опухолевых клетках рака яичников выявлена А. Камат и соавт. [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 было связано с высокой экспрессией MT1-ММП как в строме, так и в эпителии, а наиболее значимым фактором неблагоприятного прогноза оказалась высокая эпителиальная экспрессия MT1-ММП.

Ретроспективный анализ 20-летней выживаемости больных раком яичников III–IV стадии в зависимости от уровня экспрессии мРНК MT1-ММП, определенного методом гибридизации *in situ*, также подтвердил неблагоприятное влияние повышенной экспрессии этой ММП на прогноз [47, 48]. Кроме того, эти авторы подтвердили наблюдение А. Камат и соавт. о том, что в отличие от других ММП, MT1-ММП выявляется преимущественно в эпителиальных опухолевых клетках и почти отсутствует в строме [48, 66]. Неблагоприятная роль MT1-ММП, особенно при ее коэкспрессии с ММП-2 и ТИМП-2, в прогнозе выживаемости больных раком яичников продемонстрирована также К. Sakata и соавт. [37]. В одной из недавних работ продемонстрирована важная роль

MT1-ММП (ММП-14) в пролиферации и метастазировании редкой формы рака яичников — светлоклеточной аденокарциномы [67].

**Тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ.** В ткани рака яичников ТИМП-1 и ТИМП-2 находятся как в стромальных областях, так и в опухолевых клетках.

Данные о соотношении уровня экспрессии ТИМП-1 в злокачественных, пограничных и доброкачественных опухолях яичников немногочисленны и противоречивы. Так, М. Fuguuа и соавт. продемонстрировали иммуноферментным методом увеличение содержания этого маркера в кистозной жидкости больных серозным [45, 61, 68] и муцинозным [44] раком яичников. В. Davidson и соавт. [48] выявили увеличение уровня экспрессии ТИМП-1 в ткани рака яичников иммуногистохимически и методом *in situ* гибридизации. В то же время К. Sakata и соавт. [37] обнаружили, что диффузное иммуногистохимическое окрашивание на ТИМП-1 было интенсивнее в доброкачественных и пограничных опухолях, чем в аденокарциномах яичников. Более того, по данным этих авторов, высокая экспрессия ТИМП-1, особенно в сочетании с низкой экспрессией ММП-9, способствует метастазированию рака яичников в лимфатические узлы.

Наиболее интересные результаты получены при исследовании уровня ТИМП-1 в сыворотке крови. Так, М. Maatta и соавт. [42] предложили использовать сывороточный ТИМП-1 для дифференциальной диагностики опухолей яичников с высоким и низким злокачественным потенциалом. По их данным, уровень ТИМП-1 в сыворотке крови больных достоверно возрастает при переходе от доброкачественных (137–616 нг/мл; медиана — 250 нг/мл) к пограничным (63–587 нг/мл; медиана — 357 нг/мл) и далее к злокачественным (199–983 нг/мл; медиана 443 нг/мл). М. Rauvala и соавт. [69] также показали, что высокая концентрация ТИМП-1 в сыворотке крови пациентов с опухолями яичников во время постановки диагноза коррелировала со злокачественным фенотипом опухоли, а у больных раком — с агрессивным фенотипом и неблагоприятным прогнозом: повышенный уровень ТИМП-1 обнаружен при распространенных стадиях заболевания, размере остаточной опухоли >2 см, плохом ответе на цитотоксическую терапию, более короткой безрецидивной и общей выживаемостью. Авторы считают, что повышенный дооперационный уровень ТИМП-1 в сыворотке крови является фактором неблагоприятного прогноза рака яичников. В то же время в другом исследовании они не обнаружили взаимосвязи динамики уровня ТИМП-1 в процессе химиотерапии с ее эффективностью [70]. Ранее неблагоприятное прогностическое значение высоких показателей ТИМП-1 в плазме крови больных раком яичников продемонстрировали L. Manenti и соавт. [26].

В исследовании, проведенном параллельно на образцах тканей и культурах клеток опухолей яичников Т. Kim и соавт. [71] показали, что гиперэкспрессия ТИМП-2 в клетках рака яичников ингибирует апоптоз, индуцированный цисплатином, и индуцирует ММП-2; на этом основании они считают, что ТИМП-2 может способствовать росту серозных опухолей яичников. В подтверждение этого предположения, В. Davidson и соавт. [47, 48] продемонстрировали неблагоприятное прогностическое значение высокой экспрессии мРНК и белка ТИМП-2 в опухолевых и стромальных клетках распространенного рака яичников, причем уровень экспрессии ТИМП-2 в стромах оставался значимым показателем прогноза и при многофакторном анализе. В то же время некоторые другие исследователи [26, 55] не подтвердили роли ТИМП-2 в прогнозе рака яичников. По данным К. Sakata и соавт. [37], экспрессия ТИМП-2 повышена в злокачественных опухолях яичников по сравнению с доброкачественными и пограничными. Кроме того, тройное диффузное положительное иммуногистохимическое окрашивание на ТИМП-2, ММП-2 и MT1-ММП было ассоциировано с распространенными стадиями и высокой степенью злокачественности рака яичников. М. Maatta и соавт. [41] также выявили более высокую экспрессию ТИМП-2 в злокачественных опухолях, чем в пограничных и злокачественных. Однако Т. Okamoto и соавт. [72], сравнивавшие экспрессию нескольких ММП и ТИМП в опухолях и окружающих гистологически неизменных тканях больных раком яичников различного гистологического строения, утверждают, что повышенная экспрессия ТИМП-2 наблюдается только при светлоклеточном раке и является уникальным свойством этого довольно редкого гистологического варианта рака яичников.

В отличие от ТИМП-1, уровень ТИМП-2 в сыворотке крови больных раком яичников не был связан с клинико-морфологическими особенностями и прогнозом заболевания [69], но имел тенденцию к повышению у больных раком по сравнению с таковым у здоровых женщин. При этом у больных с полным ответом на химиотерапевтическое лечение после оптимально проведенной операции отмечен более высокий уровень ТИМП-2, чем у больных с частичным ответом [70].

В единичных исследованиях продемонстрирован также рост экспрессии ТИМП-3 и ТИМП-4 по мере увеличения инвазивности рака яичников [73, 74], однако дальнейшего прикладного развития эти работы пока не получили.

#### ММП КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ РАКА ЯИЧНИКОВ

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

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

**Прямое подавление синтеза ММП** осуществляется с помощью трансфекции в клетки антисмысловых (ас) мРНК или олигонуклеотидов. В частности, показано, что антисмысловая мРНК к ММП-9 понижает инвазивность культивируемых клеток рака яичников и их прикрепление к поверхностям, покрытым фибронектином [75]. Использование ас-мРНК против ММП-7 снижало количество этого фермента в культивируемых клетках рака яичников и подавляло их инвазию, индуцированную лизофосфатидиловой кислотой [76]. Ас-мРНК против МТ1-ММП подавляли не только инвазию, но и пролиферацию культуры клеток рака яичников SW626 [77, 78]. Однако вопрос о возможности использования подобных технологий в клинической практике остается пока открытым. Кроме того, на уровень экспрессии ММП могут опосредованно повлиять препараты, направленные на передачу сигналов различных тирозинкиназных рецепторов (факторов роста, цитокинов) [79]. В частности, установлено, что в регуляции экспрессии и активности ММП в клетках рака яичников участвуют такие сигнальные системы, как PI3K/Akt [20, 80–82], Raf/Ras [83], циклооксигеназная [84] и др.

**Подавление взаимодействия ММП с белками клеточной поверхности** также может заблокировать важные для инвазии проявления их активности в межклеточном пространстве. Перспективной мишенью в этом плане является взаимодействие с интегринами и кадгеринами, способствующее сближению клеток рака яичников с поверхности опухоли, их диссеминации по брюшине и образованию асцита [85–87].

**Ингибирование ферментативной активности ММП** – 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 ТИМП-2 и ТИМП-4 [88, 89], однако возможности системного введения ТИМП ограничены тем, что они обладают независимой от ММП проканцерогенной и проангиогенной активностью [4, 10, 15]. В связи с этим разрабатываются синтетические высокоспецифичные ингибиторы ММП (большинство из них – производные гидроксамовой кислоты), которые могли бы создавать эффективные концентрации в крови и вызывать регрессию опухоли. Клинические испытания проходили 5 ингибиторов ММП [12]: Маримастат – исследовался при ранних стадиях рака поджелудочной железы, BMS-275291 – при прогрессирующем немелкоклеточном раке легкого,

Приномастат – при ранних стадиях различных солидных опухолей, Метастат (тетрациклиновые ингибиторы ММП) – при саркоме Капоши, Неовастат – при неоперабельном раке почки. Однако при применении этих препаратов возникло много различных проблем. Уже ранние исследования I фазы показали, что длительное введение ингибиторов ММП сопряжено с появлением мышечных болей у 30% больных и воспалительных процессов, которые не наблюдались в доклинических исследованиях. Маримастат и Приномастат показали минимальный эффект у больных с диссеминацией. Клинические исследования VAY-129566 были прекращены на ранних этапах из-за низкой выживаемости больных. Следует также отметить, что ингибиторы ММП – цитостатические препараты, и их биологическая активность во II фазе клинических испытаний определялась не по уменьшению размеров опухоли, а по снижению темпов возрастания уровня опухолевых маркеров в сыворотке крови больных (в частности, для Маримастата). Большинство препаратов сразу после испытаний I фазы изучались во II/III фазах без проведения исследований на небольших группах больных. Возможно, именно по этим причинам результаты III фазы клинических испытаний ингибиторов ММП оказались неудовлетворительными. В большинстве исследований эти препараты оказались неэффективными, а в ряде случаев даже ухудшали результаты химиотерапии.

Предполагается, что неэффективность синтетических ингибиторов ММП может объясняться либо включением в исследование больных на поздних стадиях опухолевого процесса, либо тем, что препараты имели низкую специфичность и, возможно, ингибировали и ММП с собственной противоопухолевой активностью либо высокой частотой ревматоидоподобных воспалительных реакций, что ограничивало возможность продолжения лечения препаратом в эффективных дозах. Осложнения имели обратимый характер, но ограничивали возможность использования доз, продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях, поэтому в последующем их пришлось уменьшить. До сих пор не решен и вопрос о том, какие ММП связаны с появлением побочных реакций (мышечные боли), а какие являются мишенью для противоопухолевой терапии.

В настоящее время разрабатываются ингибиторы ММП следующего поколения, обладающие высокой специфичностью к ММП одного типа [90]. Кроме того, изучение спектра, уровня и соотношения экспрессии различных видов ММП и их тканевых ингибиторов, их биологического и прогностического значения может также оказаться полезным для разработки и эффективного применения новых ингибиторов ММП, специфичных для опухолей определенной локализации, в частности, для рака яичников, и(или) для конкретного больного.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Malesud C. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview // *Front Biosci.* – 2006; 11: 1696–701.
2. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry // *Circ. Res.* – 2003; 92 (8): 827–39.
3. Westermarck J., Kahari V. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion // *FASEB J.* – 1999; 13 (8): 781–92.
4. Ramnath N., Creaven P. Matrix metalloproteinase inhibitors // *Curr. Oncol. Rep.* – 2004; 6 (2): 96–102.
5. Liotta L., Tryggvason K., Garbisa S. et al. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen // *Nature.* – 1980; 284 (5751): 67–8.
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; 32 (2): 163–8.
7. Kamat A., Fletcher M., Gruman L. et al. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2006; 12 (6): 1707–14.
8. Deryugina E., Quigley J. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis // *Cancer Metastasis Rev.* – 2006; 25 (1): 9–34.
9. Nelson A., Fingleton B., Rothenberg M., Matrisian L. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications // *J. Clin. Oncol.* – 2000; 18 (5): 1135–49.
10. Deryugina E., Quigley J. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010; 1803 (1): 103–20.
11. Duffy M. Proteases as prognostic markers in cancer // *Clin. Cancer Res.* – 1996; 2 (4): 613–8.
12. Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002; 2 (3): 161–74.
13. Nikkola J., Vihinen P., Vuoristo M. 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; 11 (14): 5158–66.
14. Nakajima M., Welch D., Wynn D. et al. Serum and plasma M(r) 92,000 progelatinase levels correlate with spontaneous metastasis of rat 13762NF mammary adenocarcinoma // *Cancer Res.* – 1993; 53 (23): 5802–7.
15. Baker A., Edwards D., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities // *J. Cell. Sci.* – 2002; 115 (Pt 19): 3719–27.
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; 98 (2): 173–7.
17. Kenny H., Kaur S., Coussens L., Lengyel E. The initial steps of ovarian cancer cell metastasis are mediated by MMP-2 cleavage of vitronectin and fibronectin // *J. Clin. Invest.* – 2008; 118 (4): 1367–79.
18. Kenny H., Lengyel E. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis // *Cell Cycle.* – 2009; 8 (5): 683–8.
19. Ellerbroek S., Wu Y., Overall C., Stack M. Functional interplay between type I collagen and cell surface matrix metalloproteinase activity // *J. Biol. Chem.* – 2001; 276 (27): 24833–42.
20. Ellerbroek S., Halbleib J., Benavidez M. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase activity in epidermal growth factor-stimulated matrix metalloproteinase-9 production and cell surface association // *Cancer Res.* – 2001; 61 (5): 1855–61.
21. Nishikawa A., Iwasaki M., Akutagawa N. et al. Expression of various matrix proteases and Ets family transcriptional factors in ovarian cancer cell lines: correlation to invasive potential // *Gynecol. Oncol.* – 2000; 79 (2): 256–63.
22. Lin S., Lee M., Ke F. et al. TGFbeta1 stimulates the secretion of matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and the invasive behavior in human ovarian cancer cells, which is suppressed by MMP inhibitor BB3103 // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2000; 18 (6): 493–9.
23. Rodriguez G., Haisley C., Hurteau J. et al. Regulation of invasion of epithelial ovarian cancer by transforming growth factor-beta // *Gynecol. Oncol.* – 2001; 80 (2): 245–53.
24. 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; 63 (17): 5224–9.
25. 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; 15 (4): 831–6.
26. 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; 39 (13): 1948–56.
27. Wang F., So J., Reierstad S., Fishman D. Vascular endothelial growth factor-regulated ovarian cancer invasion and migration involves expression and activation of matrix metalloproteinases // *Int. J. Cancer.* – 2006; 118 (4): 879–88.
28. 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; 6 (4): 525–34.
29. Lutgendorf S., Lamkin D., Jennings N. et al. Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma // *Clin. Cancer Res.* – 2008; 14 (21): 6839–46.
30. Sood A., Bhaty R., Kamat A. et al. Stress hormone-mediated invasion of ovarian cancer cells // *Clin. Cancer Res.* – 2006; 12 (2): 369–75.
31. Sood A., Fletcher M., Coffin J. et al. Functional role of matrix metalloproteinases in ovarian tumor cell plasticity // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004; 190 (4): 899–909.
32. Goldman S., Shalev E. MMPs and TIMPs in ovarian physiology and pathophysiology // *Front. Biosci.* – 2004; 9: 2474–83.
33. Lahav-Baratz S., Kraiem Z., Shiloh H. et al. Decreased expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in follicular fluid from women with polycystic ovaries compared with normally ovulating patients undergoing in vitro fertilization // *Fertil. Steril.* – 2003; 79 (3): 567–71.
34. Lewandowski K., Komorowski J., O'Callaghan C. et al. Increased circulating levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in women with the polycystic ovary syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006; 91 (3): 1173–7.
35. Liu B., Cai L., Lv H. 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; 24 (5): 285–8.
36. Naylor M., Stamp G., Davies B., Balkwill F. Expression and activity of MMPs and their regulators in ovarian cancer // *Int. J. Cancer.* – 1994; 58 (1): 50–6.
37. 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; 17 (4): 673–81.
38. Sakata K., Shigemasa K., Uebaba Y. et al. Expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 by cells isolated from the peritoneal fluid of women with ovarian carcinoma // *Acta Cytol.* – 2002; 46 (4): 697–703.
39. Cai K., Yang W., Capo-Chichi C. et al. Prominent expression of metalloproteinases in early stages of ovarian tumorigenesis // *Mol. Carcinog.* – 2007; 46 (2): 130–43.
40. Paulsen T., Ree A., 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; 28 (5): 356–63.
41. 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; 25 (4): 188–92.
42. Maatta M., Talvensaari-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; 27 (4C): 2753–8.
43. Schmalfeldt B., Prechtel D., Harting K. et al. Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9), and the urokinase-type plasminogen activator is associated with progression from benign to advanced ovarian cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2001; 7 (8): 2396–404.
44. 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; 78 (2): 106–12.
45. Furuya M., Ishikura H., Ogawa Y. et al. Analyses of matrix metalloproteinases and their inhibitors in cyst fluid of serous ovarian tumors // *Pathobiology.* – 2000; 68 (6): 239–44.
46. Huang L., Garrett A., Bell D. et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors // *Gynecol. Oncol.* – 2000; 77 (3): 369–76.
47. Davidson B., Goldberg I., Gottlieb W. 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; 17 (10): 799–808.

48. Davidson B., Goldberg I., Gotlieb W. et al. The prognostic value of metalloproteinases and angiogenic factors in ovarian carcinoma // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2002; 187 (1–2): 39–45.
49. Sillanpaa S., Anttila M., Voutilainen K. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2007; 104 (2): 296–303.
50. Ozalp S., Tanir H., Yalcin O. Prognostic value of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase-B) expression in epithelial ovarian tumors // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2003; 24 (5): 417–20.
51. Demeter A., Sziller I., Csapo Z. et al. Molecular prognostic markers in recurrent and in non-recurrent epithelial ovarian cancer // *Anticancer Res.* – 2005; 25 (4): 2885–9.
52. 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; 28 (5): 280–9.
53. 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; 129 (2): 226–31.
54. Wu X., Li H., Kang L., Li L. et al. Activated matrix metalloproteinase-2—a potential marker of prognosis for epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2002; 84 (1): 126–34.
55. Tong P., Mao T., Chan W. et al. Prognostic significance of stromal metalloproteinase-2 in ovarian adenocarcinoma and its relation to carcinoma progression // *Gynecol. Oncol.* – 2004; 92 (2): 559–67.
56. Wang F., So J., Reierstad S., Fishman D. Matrilysin (MMP-7) promotes invasion of ovarian cancer cells by activation of progelatinase // *Int. J. Cancer.* – 2005; 114 (1): 19–31.
57. Tanimoto H., Underwood L., Shigemasa K. et al. The matrix metalloproteinase pump-1 (MMP-7, Matrilysin): A candidate marker/target for ovarian cancer detection and treatment // *Tumour Biol.* – 1999; 20 (2): 88–98.
58. Shigemasa K., Tanimoto H., Sakata K. et al. Induction of matrix metalloproteinase-7 is common in mucinous ovarian tumors including early stage disease // *Med. Oncol.* – 2000; 17 (1): 52–8.
59. Sillanpaa S., Anttila M., Voutilainen K. et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in epithelial ovarian cancer and its relation to beta-catenin expression // *Int. J. Cancer.* – 2006; 119 (8): 1792–9.
60. 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; 25 (3): 279–83.
61. Zohny S., Fayed S. 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; 27 (4): 1246–53.
62. Герштейн Е.С., Левкина Н.В., Кушлинский Д.Н. и др. Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных раком яичников // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* – 2011; (10): 27–34.
63. 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; 13 (2 Pt 1): 458–66.
64. Sodek K., Ringuette M., Brown T. MT1-MMP is the critical determinant of matrix degradation and invasion by ovarian cancer cells // *Br. J. Cancer.* – 2007; 97 (3): 358–67.
65. Moss N., Barbolina M., Liu Y. et al. Ovarian cancer cell detachment and multicellular aggregate formation are regulated by membrane type 1 matrix metalloproteinase: a potential role in l.p. metastatic dissemination // *Cancer Res.* – 2009; 69 (17): 7121–9.
66. Davidson B., Goldberg I., Berner A. et al. Expression of membrane-type 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases messenger RNA in ovarian carcinoma cells in serous effusions // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2001; 115 (4): 517–24.
67. Adley B., Gleason K., Yang X., Stack M. Expression of membrane type 1 matrix metalloproteinase (MMP-14) in epithelial ovarian cancer: high level expression in clear cell carcinoma // *Gynecol. Oncol.* – 2009; 112 (2): 319–24.
68. Furuya M. Analysis of matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors in cystic fluids of ovarian tumors // *Hokkaido Igaku Zasshi.* – 1999; 74 (2): 145–55.
69. Rauvala M., Puistola 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; 99 (3): 656–63.
70. Rauvala M., Turpeenniemi-Hujanen T., Puistola U. The value of sequential serum measurements of gelatinases and tissue inhibitors during chemotherapy in ovarian cancer // *Anticancer Res.* – 2006; 26 (6C): 4779–84.
71. Kim T., Rho S., Choi Y. 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; 37 (7): 906–13.
72. 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; 9 (10): 569–75.
73. Hu X., Li L., Li D. et al. Expression of matrix metalloproteinases-9,2,7, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1,2,3 mRNA in ovarian tumors and their clinical significance // *Ai. Zheng.* – 2004; 23 (10): 1194–8.
74. Ripley D., Tunuguntia 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; 16 (5): 1794–800.
75. Hu X., Li L., Li D. et al. Inhibitory effects of antisense MMP-9 oligodeoxynucleotides on invasiveness and adherence of ovarian cancer cells // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* – 2006; 28 (9): 662–5.
76. Wang F., Smicun Y., Calluzzo N., Fishman D. Inhibition of matrilysin expression by antisense or RNA interference decreases lysophosphatidic acid-induced epithelial ovarian cancer invasion // *Mol. Cancer Res.* – 2006; 4 (11): 831–41.
77. 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; 15 (2): 501–5.
78. Wu M., Shi Y., Xi L. et al. Construction of anti-sense MT1-MMP vector and its inhibitory effects on invasion of human ovarian cancer cells // *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* – 2005; 25 (6): 715–7.
79. 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; (1): 4–9.
80. Nicosia S., Bai W., Cheng J. et al. Oncogenic pathways implicated in ovarian epithelial cancer // *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* – 2003; 17 (4): 927–43.
81. Zhou H., Wong A. Activation of p70S6K induces expression of matrix metalloproteinase 9 associated with hepatocyte growth factor-mediated invasion in human ovarian cancer cells // *Endocrinology.* – 2006; 147 (5): 2557–66.
82. Choi J., Choi K., Auersperg N., Leung P. Gonadotropins activate proteolysis and increase invasion through protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase pathways in human epithelial ovarian cancer cells // *Cancer Res.* – 2006; 66 (7): 3912–20.
83. Ulku A., Schafer R., Der C. Essential role of Raf in Ras transformation and deregulation of matrix metalloproteinase expression in ovarian epithelial cells // *Mol. Cancer Res.* – 2003; 1 (14): 1077–88.
84. Lau M., Wong A., Leung P. Gonadotropins induce tumor cell migration and invasion by increasing cyclooxygenases expression and prostaglandin E(2) production in human ovarian cancer cells // *Endocrinology.* – 2010; 151 (7): 2985–93.
85. Symowicz J., Adley B., Gleason K. et al. Engagement of collagen-binding integrins promotes matrix metalloproteinase-9-dependent E-cadherin ectodomain shedding in ovarian carcinoma cells // *Cancer Res.* – 2007; 67 (5): 2030–9.
86. Sawada K., Radjabi A., Shinomiya N. et al. c-Met overexpression is a prognostic factor in ovarian cancer and an effective target for inhibition of peritoneal dissemination and invasion // *Cancer Res.* – 2007; 67 (4): 1670–9.
87. Shield K., Riley C., Quinn M. et al. Alpha-2beta1 integrin affects metastatic potential of ovarian carcinoma spheroids by supporting disaggregation and proteolysis // *J. Carcinog.* – 2007; 6: 11.
88. Celiker M., Wang M., Atsidaffos E. et al. Inhibition of Wilms' tumor growth by intramuscular administration of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 plasmid DNA // *Oncogene.* – 2001; 20 (32): 4337–43.
89. Brand K., Baker A., 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; 60 (20): 5723–30.
90. Murphy G., Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research // *Mol. Aspects. Med.* – 2008; 29 (5): 290–308.