

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ИНТЕРСТИЦИАЛЬНАЯ КОЛЛАГЕНАЗА ММП-1 И ЕЁ ЭНДОГЕННЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ В ТЕЛЕ МАТКИ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

О.С. Тимошенко¹, Т.А. Гуреева¹, Е.В. Кузавская¹, Л.Э. Завалишина², Н.И. Соловьева^{1}*

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; эл. почта: Nina.Solovyeva@ibmc.msk.ru

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Интерстициальная коллагеназа (ММП-1) относится к семейству матриксных металлопротеиназ (ММП), которые играют ключевую роль при генерализации процессов инвазии и метастазирования, определяющих степень злокачественности опухолей. ММП-1 относится к секретируемым, индуцируемым ММП, экспрессия которых в нормальных тканях не определяется. Индукция экспрессии ММП при плоскоклеточной карциноме шейки матки (ПКШМ) в опухоли происходит под действием онкогенов HPV, а в прилегающей к опухоли нормальной ткани – под действием индуктора экспрессии ММП – EMMPRIN (CD147), который экспрессируется на поверхности опухолевых клеток. Цель настоящего исследования – выяснить возможность экспрессии ММП-1 и её регуляторов (тканевого ингибитора – ТИМП-1 и активатора – активатора плазминогена – уАП) в морфологически нормальном теле матки при ПКШМ. Исследование проводили на тканевых “лентах” послеоперационных образцов матки при диагнозе ПКШМ. Все образцы экспрессировали ген E7 HPV16. Полученные данные свидетельствуют о том, что: 1. При ПКШМ в ткани опухоли происходит повышенная экспрессия ММП-1, низкая экспрессия (или её отсутствие) ингибитора – ТИМП-1 и выраженная экспрессия активатора – уАПУ, что приводит к увеличению активности ММП-1 и направлено на увеличение деструктивного (инвазивного) потенциала опухоли. 2. В морфологически нормальной ткани матки при ПКШМ экспрессия ММП-1 может происходить от стенки влагалища до дна полости матки, но на значительно более низком уровне, чем в опухоли. 3. Эти данные свидетельствуют о возможности развития деструктивного процесса в морфологически нормальных тканях тела матки при ПКШМ, они важны для понимания механизма опухолевой прогрессии, и предполагают участие в процессе экспрессии ММП-1 сигналинга по типу эпителиально-мезенхимального взаимодействия.

Ключевые слова: интерстициальная коллагеназа ММП-1, тканевый ингибитор ММП ТИМП-1, активатор плазминогена урокиназного типа, плоскоклеточная карцинома шейки матки

DOI: 10.18097/PBMC201763065133

ВВЕДЕНИЕ

Интерстициальная коллагеназа ММП-1 относится к матриксным металлопротеиназам (ММП), функция которых связана с обменом белков соединительно-тканного матрикса (СТМ). В тканях человека и животных известно 25 ММП, которые относятся к семейству цинковых кальций-зависимых металлопротеиназ. На основании данных по субстратной специфичности и структурной организации различают следующие подсемейства ММП: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины, мембраносвязанные ММП и неклассифицированные ММП [1-3]. ММП обладают определенной субстратной специфичностью, но в совокупности они гидролизуют все основные компоненты СТМ. Регуляторная функция ММП связана с активацией, инактивацией и модификацией свойств целого ряда биологически активных молекул [1, 2, 4, 5]. ММП-1 относится к тканевым коллагеназам и является секретируемой, индуцируемой ММП, экспрессия которой в нормальных условиях практически не определяется. Индукция экспрессии ММП при плоскоклеточной карциноме шейки матки (ПКШМ) в опухоли происходит под действием онкогенов вирусов

папиллом человека (HPV), а в прилегающей к опухоли нормальной ткани – под действием индуктора экспрессии ММП – EMMPRIN (CD147), который экспрессируется на поверхности опухолевых клеток [1-7]. Деградационная функция ММП-1 связана со специфической способностью запускать гидролиз фибриллярных коллагенов I, II, III, которые устойчивы к действию протеолитических ферментов. ММП-1 гидролизует одну пептидную связь в молекуле коллагена. Образующиеся фрагменты в физиологических условиях подвергаются действию широкого спектра тканевых протеиназ, тем самым ММП-1 обеспечивает разрушение соединительно-тканного барьера при развитии инвазивных процессов [1-8]. ММП-1 выполняет и важные регуляторные функции. Этот фермент гидролизует целый ряд ингибиторов протеиназ, высвобождает из СТМ ряд факторов роста и цитокинов, которые участвуют в регуляции сигнальных путей, обеспечивает контроль за развитием процессов инвазии, способствует экспрессии ММП как в опухоли, так и в строме, что приводит к генерализации онкологического процесса [1, 2, 5, 6, 8-11]. Следует подчеркнуть, что нередко в строме наблюдается более высокая экспрессия ММП и в более широком ассортименте [11-13].

* - адресат для переписки

Активность ММП в организме регулируется специфическими тканевыми ингибиторами (ТИМП) и активаторами. К семейству ТИМП относятся четыре ингибитора – ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3 и ТИМП-4, которые обладают определенной избирательной специфичностью [1-3, 11]. ТИМП-1 проявляет наибольшую ингибиторную активность в отношении тканевых коллагеназ и, в частности, к ММП-1. В физиологических жидкостях и, прежде всего, в крови, основным ингибитором ММП является α_2 -макрглобулин.

Основным тканевым активатором ММП-1 является плазмин, определение уровня которого осуществляется косвенно через активатор плазминогена урокиназного типа – уАП [1-4, 7]. Соотношение фермент/активатор/ингибитор является ключевым фактором, который определяет на посттрансляционном уровне проявление ферментативной активности ММП-1, то есть деструктивных возможностей ткани, её инвазивный потенциал.

Настоящая работа посвящена исследованию экспрессии ММП-1 и её эндогенных регуляторов в теле матки при ПКШМ. Этиологическими факторами возникновения рака шейки матки служат вирусы папиллом (HPV) высокого риска, среди которых вирусы HPV16 и HPV18 являются наиболее распространенными и агрессивными [10-14]. Рак шейки матки занимает второе место после рака молочной железы по частоте заболеваемости и смертности от рака у женщин. Исследования, проведенные нами на клетках, трансформированных онкогеном E7 HPV16, и линиях клеток карциномы шейки матки человека, трансформированных онкогенами вирусов папиллом человека 16 и 18 типов, показали, что основной вклад в инвазивный потенциал опухоли вносит увеличение экспрессии ММП-1 и ММП-9, в то время как экспрессия тканевых ингибиторов находится на чрезвычайно низком уровне или отсутствует. Получены предварительные данные об экспрессии ММП и их регуляторов не только в карциномах шейки матки, но и в прилегающей к опухоли нормальной ткани [4, 12-14]. В литературе данные по экспрессии ММП и их регуляторов в клинических образцах на протяжении от стенки влагалища до дна полости матки отсутствуют.

Целью настоящего исследования являлось выяснение особенностей экспрессии интерстициальной коллагеназы (ММП-1), её тканевого ингибитора – ТИМП-1 и активатора проММП-1 – плазмينا (через активатор плазминогена) в теле матки при ПКШМ. Исследования позволят оценить уровень экспрессии и деструктивной активности этих ключевых факторов инвазии в нормальной ткани матки, отличающейся по структуре от ткани шейки матки и находящейся вне зоны ПКШМ, что может приводить к развитию деструктивных процессов в теле матки. Подобные исследования ставят вопрос о возможной дистанционной передаче сигналов по развитию процессов инвазии и метастазирования опухолей, например, по эпителиально-мезенхимальному типу с участием Hedgehog (Hh) сигналинга и его роли в активации ММП.

МЕТОДИКА

Клинический материал

Работа проведена на операционном материале, полученном при удалении матки у восьми пациенток с диагнозом ПКШМ. Материал получен и охарактеризован, ткани гистологически идентифицированы в патологоанатомическом отделении МНИОИ им. П.А. Герцена. Данные по наличию опухоли в образцах тканевых “лент” представлены в таблице 1. В работе было использовано восемь тканевых “лент”, расположенных на протяжении от стенки влагалища до дна полости матки, разделённых в зависимости от их длины на 5-8 фрагментов, которые были заморожены немедленно после операции и хранились в жидком азоте. Согласие на использование материала для научных исследований было получено от всех пациентов. Исследования проводились в соответствии с принципами, обозначенными в Хельсинской декларации. Все образцы были классифицированы по TNM клинической классификации опухолей согласно требованиям международного союза по борьбе с раком (UICC).

Таблица 1. Наличие опухоли в образцах тканевых “лент” по гематоксилиновой реакции

№ ленты	№ фрагмента							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	+	-	-	-	-		
2	+	+	+	+/-	-	-		
3	+	+	+	-	-	-	-	
4	+	+	+	-	-			
5	+	+	+	+	+			
6	+	+	-	-	-			
7	+	+	+	-	-	-		
8	+	+	+	-	-	-	-	-

Примечание: “+” – присутствие опухоли; “-” – отсутствие опухоли.

Иммуногистохимические исследования

Иммуногистохимическую реакцию проводили по методу Dabbs [15] с некоторыми модификациями [16, 17]. В работе использовали замороженные срезы толщиной 5 мкм, которые готовили по стандартной методике на криостате Leica CM 1510S и монтировали на высокоадгезивных стеклах. Затем срезы фиксировали 10% нейтральным формалином 15 мин при комнатной температуре. Восстановление антигенной активности проводили в модуле предобработки автостейнера при температуре 97°C в течение 20 мин в цитратном буфере pH 6,0 или в стандартном трис-ЭДТА буфере pH 9,0 для соответствующих антител. Использовали моноклональные антитела к ММП-1 и ТИМП-1 LabVision (“Thermo Fisher Scientific”, США) в готовом разведении. Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме

в иммуногистостейнере Avtosteiner (“Dako”, Дания). В качестве детекционной системы использовали систему Envision (“Dako”), в качестве хромогена – диаминобензидин. Затем срезы докрашивали гематоксилином. Микроскопирование проводили на анализаторе изображения Leika Q550. Интенсивность реакции оценивали полуколичественным способом по бальной шкале от 0 до 3, учитывая выраженность реакции и её локализацию: 0 – отсутствие реакции; 1 – слабая реакция; 2 – умеренная реакция; 3 – сильная реакция.

Экспрессия генов

Исследование экспрессии генов ММП-1 и ТИМП-1 проводили методом полуколичественной ОТ-ПЦР [16, 18]. Выделение РНК проводили с использованием набора “SV Total RNA Isolation System Z3100” (“Promega”, США). Нормировку результатов осуществляли по уровню экспрессии генов домашнего хозяйства GAPDH (глицеральдегид-фосфатдегидрогеназы) и HPRT (гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы). В таблице 2 приведены праймеры, использованные в работе.

Таблица 2. Использованные в работе праймеры

ММП-1	
Прямой праймер	5' gga caa aca cat ctg acc tac agg a 3'
Обратный праймер	5' ttg tcc cga tga tct ccc ctg aca 3'
Размер продукта	185 н.п.
Условия амплификации	62°C, 34 цикла, 30 сек
ТИМП-1	
Прямой праймер	5' gac cac ctt ata cca gct tt 3'
Обратный праймер	5' gca ggc agg caa ggt gac 3'
Размер продукта	410 н.п.
Условия амплификации	51°C, 28 циклов, 30 сек
GAPDH	
Прямой праймер	5' acc aca gtc cat gcc atc ac 3'
Обратный праймер	5' tcc acc acc ctg ttg ctg ta 3'
Размер продукта	450 н.п.
Условия амплификации	60°C, 28 циклов, 30 сек
HPRT	
Прямой праймер	5' ctg gat tac atc aaa gca ctg 3'
Обратный праймер	5' gga tta tac tgc ctg acc aag 3'
Размер продукта	230 н.п.
Условия амплификации	60°C, 30 циклов, 30 сек

Для подбора специфических праймеров были использованы данные GeneBank Nucleotide Sequence Database. Для оценки структуры праймеров использовали компьютерную программу Oligo 4.1 Primer Analysis Software. Продукты ОТ-ПЦР разделяли в 1,5% агарозном геле, содержащем бромид этидия 0,5 мкг/мл [18].

Иммуноферментный анализ

Экспрессия ММП-1 в лентях была исследована методом иммуноферментного анализа ELISA с использованием набора “MMP-1 DuoSet” и проводилась в рамках генерального протокола анализа. В каждую лунку 96-луночного планшета вносили 50 мкг белка лизата; каждый эксперимент

повторяли трёхкратно. Расчёт удельной концентрации ММП-1 производили на основании построения стандартной калибровочной кривой и выражали в пг/мг белка лизата. Данные о количестве ММП-1 в образцах представлены в таблице 3.

Приготовление тканевых лизатов

Замороженные в жидком азоте ткани разрушали до порошкообразного состояния в тефлоновой кювете гомогенизатора – дисмембратора фирмы “Sartorius” (Германия) в течение 120 с. Полученный порошок ресуспендировали в растворе 0,45% NaCl, содержащем 1 mM CaCl₂ и 0,1% тритон X-100 с помощью гомогенизатора “Daunce” (“Wheaton”, США). Суспензию центрифугировали при 13000 g 10 мин. Концентрацию белка в супернатантах (лизатах) определяли анализом с бичинхоиновой кислотой (18).

Определение активности активатора плазминогена (уАП)

Активность уАП определяли по гидролизу Z-Gly-Gly-Arg-MCA [19]. Реакцию проводили в 0,1 M Na-фосфатном буфере pH 7,8. Инкубационная смесь в объёме 600 мкл содержала 10-50 мкл лизата (20-50 мкг белка), 24 мкл раствора субстрата в конечной концентрации 4×10⁻⁵ M. Гидролиз проводили при 37°C в течение 5-20 мин, реакцию останавливали добавлением 0,05 M Na-ацетатного буфера pH 4,0. Флуоресценцию образовавшегося продукта гидролиза – метилкумарил-амин (MCA) измеряли при длинах волн: 370 нМ (возбуждение) и 460 нМ (излучение). Активность выражали в пкМ продукта, освобождённого за 1 мин на 1 мг белка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование экспрессии ММП-1, её эндогенного ингибитора ТИМП-1 и косвенного активатора её профермента (проММП-1) – активатора плазминогена уАП (через плазмин) проводили на восьми тканевых “лентах”, полученных при удалении матки при ПКШМ, расположенных на протяжении от стенки влагалища до дна полости матки, которые были разделены на фрагменты длиной в 1 см.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии ММП-1 и ТИМП-1 проводилось с использованием соответствующих антител к ММП-1 и ТИМП-1. Результаты оценивались по интенсивности реакции по 3-х бальной шкале (от 0 до 3 баллов). На рисунке 1А представлены данные по экспрессии ММП-1 в типичной тканевой “ленте”, состоящей из шести фрагментов. Ярко выраженная экспрессия ММП-1 (2-3 балла) обнаружена во фрагментах, содержащих опухолевую ткань (1-4), и не обнаружена во фрагментах, где опухоль отсутствовала (5-6). Высокая экспрессия ММП-1 в отдельных опухолевых образцах ПКШМ представлена на рисунке 1Б. Однако, данные по ИГХ реакции в тканевых “лентах”, представленные в таблице 4 (“ленты” 3, 4, 7, 8), свидетельствуют о том, что экспрессия ММП-1, хотя и на более низком уровне, может происходить

ММП-1 И ЕЁ РЕГУЛЯТОРЫ В ТЕЛЕ МАТКИ ПРИ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Таблица 3. ММП-1, уАП в тканевых “лентах” при ПКШМ

	№ фрагмента	№ ленты																	
		1			2			3			4			5			6		
		*	ММП1	уАП	*	ММП1	уАП	*	ММП1	уАП	*	ММП1	уАП	*	ММП1	уАП	*	ММП1	уАП
Шейка матки ↓	1	-	2,0	293	+	1,2	226	+	1,2	128	+	10,0	169	+	2	119	+	29,6	178
	2	+	1,0	68	+	4,0	123	+	2,0	184	+	46,2	151	+	3	75	+	28,0	156
	3	-	12,0	34	+	11,2	289	+	-	149	+	3,0	421	+	-	102	-	32,0	188
	4	-	14,0	331	±	-	99	-	-	322	-	1,1	75	+	-	61	-	-	418
	5	-	-	272	-	-	50	-	-	240	-	1,0	63	+	-	119	-	-	385
Дно полости матки	6				-	-	53	-	-	320	-	1,1	58	-	-	105			
	7							-	-	223									
	8							-	-	153									

Примечание: * - наличие опухоли; “+” - присутствие опухоли; “-” - отсутствие опухоли; ММП-1 - удельная концентрация (пг ММП-1/ мг белка); уАП - удельная активность активатора плазминогена (пМ /мин /мг белка).

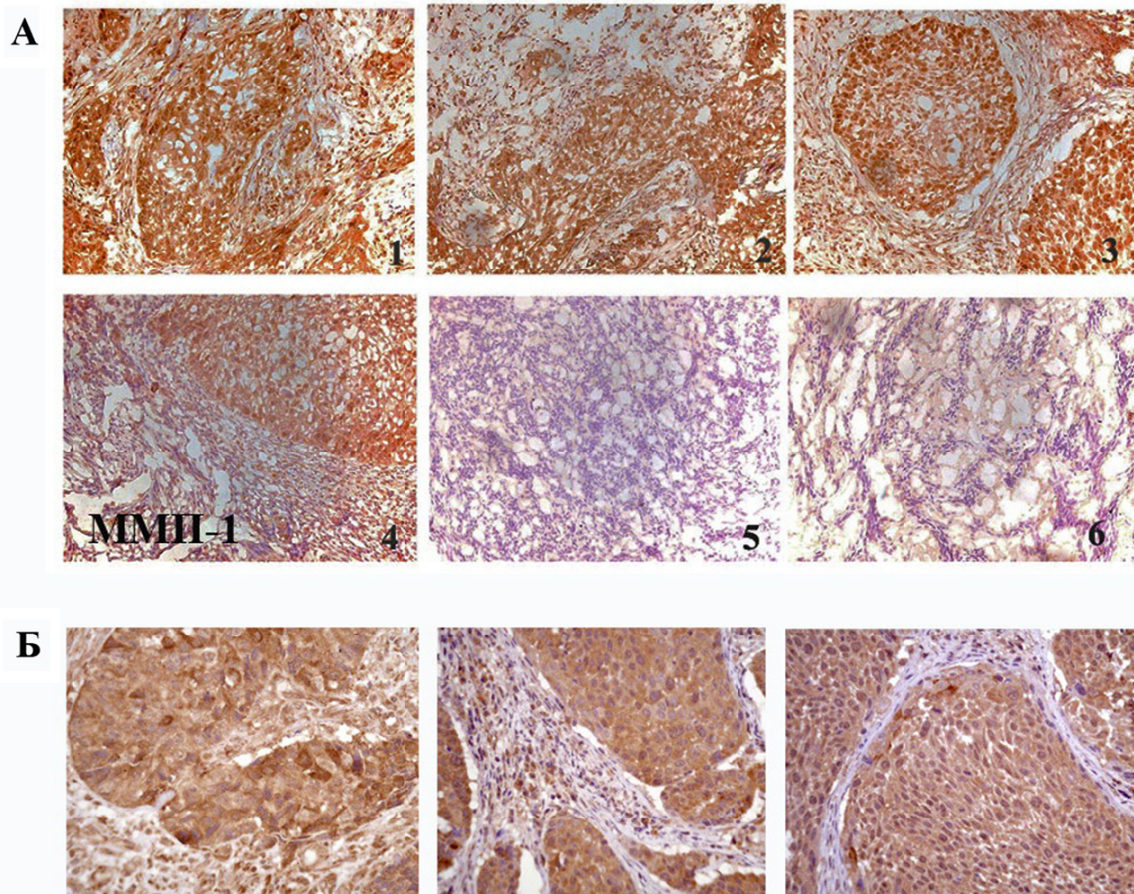


Рисунок 1. Экспрессия (ИГХ реакция) ММП-1: А - в тканевых “лентах” при ПКШМ; Б - в отдельных образцах ПКШМ.

Таблица 4. ИГХ ММП-1 в тканевых “лентах” при ПКШМ

№ ленты	№ фрагмента															
	1		2		3		4		5		6		7		8	
	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*	ИГХ	*
2	3+	*	2+	*	2+	*	1-2+	*	-	-	-	-				
3	2+	*	2+	*	2+	*	1+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-
4	1+	*	1+	*	1+	*	1+	-	1+	-	1+	-	-	-	-	-
7	3+	*	3+-	*	3+	-	1+	-	1-2+	-	-	-				
8	2+	*	3+	*	3+	*	2+	-	2+	-	2+	-				

Примечание: * - наличие опухоли; “+” - присутствие опухоли; “-” - отсутствие опухоли.

и в морфологически нормальной ткани, не только прилегающей к опухоли, но и находящейся далее в нормальной ткани тела матки, что может способствовать развитию деструктивного процесса. На рисунке 2А представлены данные по экспрессии ТИМП-1 в “ленте”, состоящей из 6-и фрагментов, где опухоль находилась в 1-3 фрагментах. ИГХ реакция отсутствует по всей длине ленты. Однако в отдельных образцах опухолей других пациентов (рис. 2Б) была обнаружена экспрессия ТИМП-1 на уровне 1-2 баллов, что свидетельствует о том, что в опухолях наблюдается как выраженная экспрессия ТИМП-1 (рис. 2Б), так и отсутствие его экспрессии (рис. 2А).

Повышенная экспрессия ММП-1 и низкая экспрессия (или её отсутствие) ТИМП-1 приводят к увеличению активности ММП-1. Повышенный уровень экспрессии ММП-1 при ПКШМ может рассматриваться как фактор плохого прогноза для пациента. Экспрессия ММП-1 и регуляторов её активности может происходить (индуцироваться) и в морфологически нормальной ткани матки, по-видимому, по типу эпителиально-мезенхимального взаимодействия [20, 21].

Данные по экспрессии генов ММП-1 представлены на примере двух тканевых “лент” (рис. 3 А1, А2). В обеих “лентах” экспрессия мРНК ММП-1 обнаружена во всех фрагментах “лент” от стенки влагалища до дна полости матки. Во фрагментах 1-3 для “ленты” А1 и в 1-2 фрагментах для “ленты” А2, где присутствует опухоль ПКШМ,

экспрессия генов ММП-1 была выражена намного сильнее, чем в последующих морфологически нормальных фрагментах тела матки, где опухоль отсутствовала: в 4-6 для “ленты” А1 и в 3-5 фрагментах для “ленты” А2. Полученные результаты свидетельствуют о том, что, несмотря на значительное снижение экспрессии ММП-1 в нормальной ткани матки, экспрессия генов ММП-1 может происходить как в опухолевой ткани шейки матки при ПКШМ, так и в морфологически нормальной ткани тела матки от стенки влагалища до дна полости матки, что может влиять на деструктивный потенциал ткани и развитие инвазивного процесса.

Исследование экспрессии генов ТИМП-1 проводили в тех же лентах, в которых исследовали экспрессию ММП-1 (рис. 3 Б1 и Б2). Показано, что экспрессия мРНК ТИМП-1 в “ленте” Б1 происходила равномерно по всей длине “ленты” и была достаточно выражена как в опухолевых фрагментах 1-3, так и в морфологически нормальных фрагментах 3-6. Во второй “ленте” Б2, где опухоль находилась в 1-2 фрагментах (рис. 3Б), наблюдалась недостаточно равномерная экспрессия мРНК ТИМП-1 по длине “ленты”. Однако экспрессия наблюдалась как во фрагментах опухоли, так и нормальной ткани, и была представлена практически на одном уровне. Данные по экспрессии мРНК ТИМП-1 свидетельствуют о достаточно равнозначимой экспрессии ингибитора как в опухоли, так и в нормальной ткани, в то время как экспрессия гена ММП-1 значительно

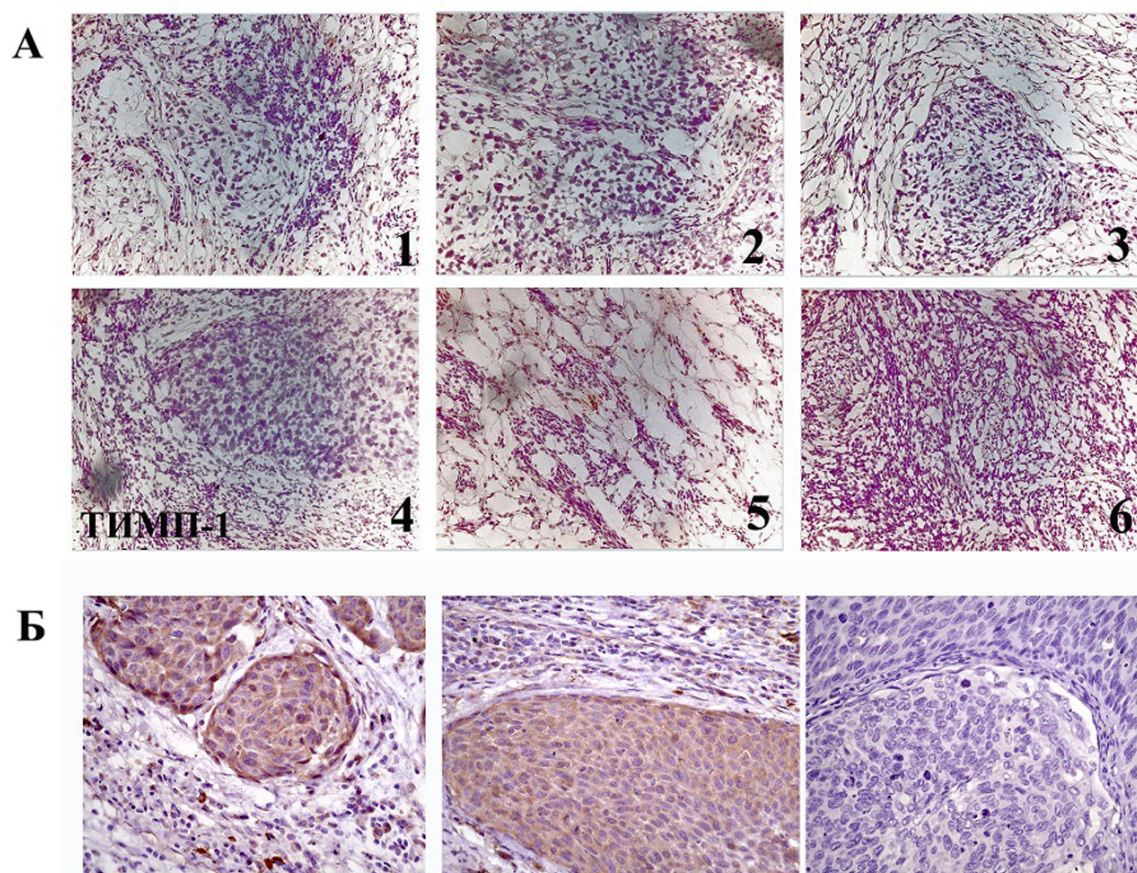


Рисунок 2. Экспрессия (ИГХ реакция) ТИМП-1: А - в тканевых “лентах” при ПКШМ; Б - в отдельных образцах ПКШМ.

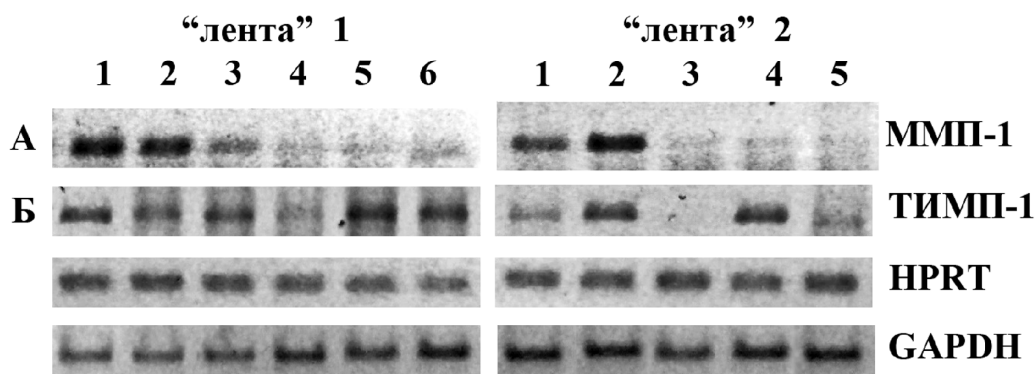


Рисунок 3. Экспрессия генов ММП-1 и ТИМП-1 в тканевых “лентах” при ПКШМ. Цифровые обозначения 1-6 и 1-5 соответствуют нумерации фрагментов тканевых лент.

увеличивается в опухоли и присутствует в нормальной ткани, что позволяет ферменту проявлять повышенную активность, приводящую к развитию процесса деструкции (инвазии).

Представленные данные согласуются с результатами, полученными нами ранее на образцах ПКШМ и прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани [23]. Причины расхождения в результатах, полученных с помощью ИГХ реакции (белок) и более чувствительного метода ОТ-ПЦР (мРНК), в настоящее время объяснить достоверно трудно. Это отмечают и другие авторы [4, 16].

Исследование количественного содержания ММП-1 в тканевых “лентах” с помощью иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА) показало (табл. 3), что экспрессия ММП-1 обнаружена в большинстве фрагментов опухолевой ткани всех тканевых “лент” на разном уровне. Однако не во всех опухолевых фрагментах некоторых “лент” (2, 3, 5) ММП-1 была выявлена. В то же время в ряде тканевых “лент” (1, 4, 6) наблюдали экспрессию ММП-1 в морфологически нормальной ткани, причём в некоторых “лентах” (1, 4) практически до дна полости матки. Полученные данные свидетельствуют о том, что экспрессия ММП-1 может происходить не только в опухолевой, но и в морфологически нормальной ткани матки, что может влиять на развитие деструктивного процесса во всём органе. Они подтверждают данные, полученные нами при ИГХ исследованиях, и результаты по экспрессии генов ММП-1 в тканевых “лентах”.

Данные по исследованию активности активатора проММП-1 – уАП свидетельствуют о том (табл. 3), что активность фермента находилась на достаточно высоком уровне во всех фрагментах тканевых “лент” как опухолевой, так и нормальной ткани от стенки влагалища до дна полости матки, причём в некоторых “лентах” (2, 4) в опухолевых фрагментах активность уАП была наиболее выражена, что коррелирует с данными по ИФА в отношении ММП-1. Следует учитывать, что уАП, как сериновая протеиназа, может участвовать в деградации тканей, усиливая деструктивный потенциал опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о том, что при ПКШМ в опухоли происходит повышенная экспрессия ММП-1, низкая экспрессия (или её отсутствие) её ингибитора – ТИМП-1 и достаточно выраженная экспрессия активатора – уАП, что приводит к увеличению активности ММП-1 и направлено на увеличение деструктивного (инвазивного) потенциала опухоли. В морфологически нормальной ткани матки при ПКШМ экспрессия ММП-1 может происходить от стенки влагалища до дна полости матки, но на значительно более низком уровне, чем в опухоли. Эти данные свидетельствуют о возможности развития деструктивного процесса в морфологически нормальных тканях тела матки при ПКШМ, они важны для понимания механизма опухолевой прогрессии, и предполагают участие в процессе экспрессии ММП-1 сигналинга по типу эпителиально-мезенхимального взаимодействия.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках “Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Visse R., Nagase H. (2003) Circ Res., **92**, 827-839.
2. Amar S., Smith L., Fields G.B. (2017) Biochim. Biophys. Acta, pii: S0167-4889(17)30109-X. DOI:10.1016/j.bbamcr.2017.04.015
3. Nagase H., Visse R. (2011) in: Extracellular Matrix Degradation, Springer, Berlin, Heidelberg, 95-122.
4. Соловьёва Н.И., Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кугаевская Е.В. (2015) Биомед. химия, **61**, 694-704. DOI: 10.18097/PBMC20156106694
5. Shuman Moss L.A., Jensen-Taubman S., Stetler-Stevenson W.G. (2012) Am. J. Pathol., **181**(6), 1895-1899.
6. Murphy G., Nagase H. (2008) Mol. Aspects Med., **29**, 2900-3086.
7. Timoshenko O.S., Gureeva T.A., Kugaevskaya E.V., Solovyeva N.I. (2015) Biochemistry (Moscow) (suppl. Series B: Biomedical Chemistry), **9**(4), 351-354.

8. Tu G, Xu W, Huang H, Li S. (2008) *Curr. Med. Chem.*, **15**(14), 1388-1395.
9. zur Hausen H. (1996) *Biochim. Biophys. Acta*, **1288**, 55-78.
10. zur Hausen H. (2009) *Virology*, **384**, 260-265.
11. Киселев Ф.Л., Имянитов Е.Н., Киселева Н.П., Левина Е.С. (2013) Молекулярная онкология: от вирусной теории к лечению рака (ред. Орлова Г.М.), ГЕОС, Москва, с. 40-46.
12. Соловьёва Н.И. (1998) *Биоорг. химия*, **24**, 217-226.
13. Соловьёва Н.И. (2000) *Вопр. мед. химии*, **46**, 489-490.
14. Ryzhakova O.S., Zavalishina L.E., Andreeva Ju.Ju., Solovyeva N. I. (2013) *Biochemistry (Moscow)* (suppl. Series B: Biomedical Chemistry), **7**(4), 294-299.
15. Dabbs D. (2006) in: *Diagnostic Immunohistochemistry*. 2nd ed., Philadelphia
16. Samoylova E.V., Shaikhaev G.O., Petrov S.V., Kisseljova N.P., Kissel'ov F.L. (1995) *Int. J. Cancer*, **61**(3), 337-341.
17. Ivanova T., Vinokurova S., Petrenko A., Eshilev E., Solovyova N., Kissel'ov F., Kisseljova N. (2004) *Int. J. Cancer*, **108**(6), 882-886.
18. Solovyeva N.I., Ryzhakova O.S., Kisseleva N.P., Zavalishina L.E., Andreeva Ju.Ju., Frank G.A. (2010) *Cancer Res. J.*, **4**(1), 59-72.
19. Соловьёва Н.И., Винокурова С.В., Дилакян Э.А., Гуреева Т.А., Журбицкая В.А., Балаевская Т.О. (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**, 72-79.
20. Matsushita S., Onishi H., Nakano K., Nagamatsu I., Imaizumi A., Hattori M., Oda Y., Tanaka M., Katano M. (2014) *Cancer Sci.*, **105**(3), 272-280.
21. Xu T, Xu G, Gu Z, Wu H. (2017) *J. Oral. Pathol. Med.*, **46**(4), 284-291.
22. Тимошенко О.С., Кугаевская Е.В., Гуреева Т.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Соловьёва Н.И. (2015) *Архив патологии*, **77**(5), 31-35.
23. Davidson B., Goldberg L., Kopolovic J., Lerner-Geva L., Gotlieb W.H., Ben-Baruch G., Reich R. (1999) *Gynecol. Oncol.*, **73**(3), 372-382.

Поступила: 02. 10. 2017.
Принята к печати: 09. 11. 2017.

INTERSTITIAL COLLAGENASE AND THEIR ENDOGENOUS REGULATORS IN SQUAMOUS CELL CERVICAL CARCINOMA

O.S. Timoshenko¹, T.A. Gureeva¹, E.V. Kugaevskaya¹, L.E. Zavalishina², N.I. Solovyeva¹

¹Institute of Biomedical Chemistry,

10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; tel.: 8-499-246-50-72; e-mail: nina.solovyeva@ibmc.msk.ru

²Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia

Interstitial collagenase (MMP-1) belongs to the family of matrix metalloproteinases (MMP), which play a key role in generalization processes of invasion and metastasis, which determine the degree of tumor malignancy. MMP-1 refers to secreted, inducible MMP, the expression of which in normal tissues is not defined. Induction of expression of MMP in CSS in the tumor occurs under the action of oncogenes of HPV, and in areas adjacent to the tumor normal tissue under the action of the inductor expression of MMP – EMMPRIN (CD147), which expressively on the surface of tumor cells. The aim of this study is to determine the possibility of expression of MMP-1 and its regulators (tissue inhibitors TIMP-1 and activator - plasminogen activator – ADF) in morphologically normal body of the uterus during CSS. The study was carried out using on a tissue “tape” – postoperative specimens of the uterus when the diagnosis of CSS. All of the samples was expressed HPV16 gene E7. It was shown that: 1. The increase of MMP-1 expression, low expression (or lack thereof) of its inhibitors TIMP-1 and a very clear expression of the activator take place in the tumor when CSS that lead to increased activity of MMP-1, and aims to increase the destructive (invasive) potential of the tumor. 2. In morphologically normal tissue of the uterus during CSS the expression of MMP-1 can occur from the vaginal wall to the bottom of the uterine cavity, but at a much lower level than in the tumor. 3. These data indicate the possibility of development of a destructive process in morphologically normal body tissues of the uterus during CSS, important for understanding the mechanism of tumor progression, and suggest participation in the process of expression of MMP-1 signaling by the type of epithelial-mesenchymal interaction.

Key words: interstitial collagenase MMP-1, tissue inhibitor of MMPs TIMP-1, plasminogen activator ADF, squamous cell cervical carcinoma