

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

УДК 577.3.4\*24'142

©Коллектив авторов

### ИНТЕРСТИЦИАЛЬНАЯ КОЛЛАГЕНАЗА, ЖЕЛАТИНАЗЫ А И В И ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

*О.С. Рыжакова<sup>1</sup>, Л.Э. Завалишина<sup>2</sup>, Ю.Ю. Андреева<sup>2</sup>, Н.И. Соловьева<sup>1\*</sup>*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение  
“Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
имени В.Н. Ореховича” Российской Академии Медицинских Наук, 119121,  
Москва, ул. Погодинская, д.10; тел.: 8(499)246-50-72;  
эл. почта: Nina.Solovyeva@ibmc.msk.ru

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение Московский  
научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена,  
Минздрав, Москва

Интерстициальная коллагеназа и желатиназы относятся к матриксным металлопротеиназам (ММП), которые играют ключевую роль в генерализации процессов инвазии и метастазирования, определяющих степень злокачественности опухолей. Целью настоящего исследования было выяснение особенностей экспрессии интерстициальной коллагеназы (ММП-1), желатиназ А и В (ММП-2 и ММП-9) и их эндогенных тканевых ингибиторов - ТИМП-1, ТИМП-2, как факторов инвазии, при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Исследование проводили на 24 образцах карцином шейки матки и 11 образцах морфологически нормальной ткани, прилегающей к опухоли. Все образцы карцином экспрессировали ген E7 HPV16. Полученные данные свидетельствуют о том, что основной вклад в деструктивный (инвазивный) потенциал карцином шейки матки вносит увеличение экспрессии ММП-1 и ММП-9 и низкая экспрессия ингибиторов – ТИМП-1 и ТИМП-2, и в меньшей степени – изменение экспрессии ММП-2. В прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани обнаружена существенная экспрессия ММП-1, ММП-2, ММП-9, которая вносит свой дополнительный вклад в увеличение деструктивного потенциала опухоли.

**Ключевые слова:** матриксные металлопротеиназы (ММП) – ММП-1,-2,-9, тканевые ингибиторы ММП – ТИМП-1 и ТИМП-2, плоскоклеточная карцинома шейки матки.

---

\* - адресат для переписки

## ММП, ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРИ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

**ВВЕДЕНИЕ.** Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству цинковых кальций-зависимых металлопротеиназ, функция которых связана с обменом белков соединительно-тканного матрикса (СТМ). В организме человека и высших животных обнаружено 23 ММП [1-8]. На основании данных по субстратной специфичности и структурной организации ММП разделены на 6 подсемейств: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины, мембраносвязанные ММП и неклассифицированные ММП [1-4]. Эти ферменты в совокупности способны гидролизовать все основные компоненты СТМ: фибриллярные коллагены, коллаген базальных мембран, эластин, протеогликаны и др. Кроме того, они выполняют важные регуляторные функции, активируя, инактивируя и модифицируя свойства целого ряда биологически активных молекул [1-5]. ММП играют важную роль в таких биологических процессах как эмбриогенез, ремоделирование и репарация тканей, ангиогенез, апоптоз, и др., а также при развитии ряда патологических процессов, таких как ревматоидные артриты, остеоартриты, аневризмы аорты, периодонтиты, аутоимунные поражения кожи и др. [1-6]. Особое место отводится ММП в развитии процессов инвазии и метастазирования опухолей [1-9]. Тканевые коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13) наряду с желатиназами (ММП-2, ММП-9) играют решающую роль в развитии этих процессов, поскольку они специфически гидролизуют белки группы коллагена. Коллагеназы, и в первую очередь интерстициальная коллагеназа (ММП-1), специфически гидролизуют фибриллярные коллагены I, II, III типов. Нативные фибриллярные коллагены устойчивы к действию протеолитических ферментов. Коллагеназы специфически запускают гидролиз фибриллярных коллагенов и тем самым обеспечивают инициацию и развитие деструктивного процесса [5]. Желатиназы гидролизуют коллаген IV типа – основной белок базальных мембран [1]. Этим двум группам ферментов принадлежит ключевая роль в разрушении соединительно-тканного барьера при развитии инвазивного онкологического процесса.

Активность ММП в организме регулируется специфическими тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП). К семейству ТИМП относится четыре ингибитора - ТИМП-1, ТИМП-2, ТИМП-3 и ТИМП-4. Они могут ингибировать активность всех членов семейства ММП, однако обладают определённой избирательной специфичностью [10]. В физиологических жидкостях и, прежде всего в крови, основным ингибитором ММП является  $\alpha_2$ -макроглобулин. Исследования последнего времени указывают на комплексную роль ТИМПов при прогрессии опухолей и в ангиогенезе [1-4]. Ингибиторуя ММП, ТИМП участвуют в регуляции деградации СТМ, опосредованной ММП, а ТИМП-2 участвует в активации про-ММП-2. ТИМП обладают цитокиноподобной активностью и могут принимать участие в регуляции таких процессов как апоптоз и клеточный рост [1, 10].

Настоящая работа посвящена исследованию ММП и их эндогенных тканевых ингибиторов при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Этиологическими факторами возникновения рака шейки матки служат вирусы папиллом (HPV) высокого риска, среди которых вирусы HPV16 и HPV18 являются наиболее распространенными и агрессивными [11-13]. По частоте заболеваемости и смертности от рака у женщин рак шейки матки занимает второе место, после рака молочной железы. Установлено, что основными трансформирующими генами вирусов папиллом человека являются гены

Е6 и Е7. У 90% больных раком шейки матки обнаруживаются транскрипты генов Е6 и Е7 в биопсийном материале [11-13].

Целью настоящего исследования было выяснение особенностей экспрессии интерстициальной коллагеназы (ММП-1), желатиназ А и Б – ММП-2 и ММП-9 и их эндогенных тканевых ингибиторов, как факторов инвазии, при плоскоклеточной карциноме шейки матки.

#### **МЕТОДИКА.**

*Клинический материал.* В работе использованы 24 образца плоскоклеточной карциномы шейки матки и 11 образцов прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани, которые были получены от пациентов из ОНЦ РАМН им. Н.Н. Блохина. Образцы тканей были заморожены немедленно после операции, и хранились в жидком азоте. Все образцы были классифицированы по TNM клинической классификации опухолей в соответствии с требованиями международного союза по борьбе с раком (UICC). Ткани были гистологически идентифицированы в отделе патоморфологии ОНЦ РАМН. Образцы были собраны в соответствии с правилами, утверждёнными Советом института ОНЦ РАМН. Согласие на использование операционного материала было получено ото всех пациентов. Все образцы карцином экспрессировали ген Е7 HPV16.

*Определение коллагенолитической активности.* Для определения активности интерстициальной коллагеназы (ММП-1) использовали меченый флуоресцеинизотиоцианатом коллаген I типа, полученный из кожи крыс [14]. Замороженные в жидком азоте ткани разрушали до порошкообразного состояния в тefлоновой кювете гомогенизатора фирмы “Braun” в течение 20-40 с. Полученный порошок ресуспендировали в растворе 0,45% NaCl, содержащем 1 mM CaCl<sub>2</sub> и 0,1% тритон X-100 с помощью гомогенизатора Daunce (“Wheaton”). Суспензию центрифугировали при 5000 g 10 мин. Активность определяли в супернатанте. Состав пробы: на реконструированные фибриллы коллагена (плёнки, содержащие 70-80 мкг коллагена), предварительно промытые от слабо связанного флуоресцеина, наносили исследуемые пробы (от 100 до 1000 мкг белка), объём пробы доводили до 1 мл 0,01 M Трис-HCl буфером (pH 7,6) с добавлением 1 mM CaCl<sub>2</sub> и 0,2 M NaCl. Инкубацию проводили в течение 18-20 ч при 35°C. Контролем служили пробы, инкубированные с буфером, а также пробы с определённым количеством трипсина (от 2 до 10 мкг). Флуоресценцию измеряли при длинах волн 490 и 520 нм возбуждения и поглощения соответственно. Гидролиз плёнок трипсином был показателем степени их возможной денатурации при мечении коллагена. В наших экспериментах он не превышал 5-10%.

*Идентификация коллагеназ IV типа, с помощью метода зимографии.* Зимографию с сополимеризованным желатином проводили по модифицированному методу, описанному ранее [15-17]. Концентрация верхнего (концентрирующего) геля - 4%, нижнего (разделяющего) - 7,5%, концентрация желатина 1,5 мг/мл. Пробы наносили из расчёта 50 мкг белка на лунку. Перед нанесением на гель к пробам добавляли диссоциирующий буфер, содержащий 2,5% SDS, 1% сахарозу и 4 мг/мл фенолового красного (конечная концентрация). ЭФ проводили при температуре 9°C в течение 1,5 ч (I = 20 mA). Гель промывали 3 раза по 30 мин в буфере, содержащем 50 mM Трис-HCl (pH 7,5), 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 2,5% тритон X-100, после чего гель инкубировали в течение 20 ч при температуре 37°C в буфере pH 7,5, содержащем 50 mM Трис-HCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub> и 1% тритон X-100. После инкубации гель фиксировали в смеси изопропанол : уксусная кислота : вода

## ММП, ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРИ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

5:2:13, окрашивали в течение 30 минут (Кумасси R-250) и отмывали в растворе изопропанол : уксусная кислота : вода 2:1:17. Количественную оценку проводили с помощью денситометрии.

*Иммуногистохимическое исследование [18].* Послеоперационный материал фиксировали 10% нейтральным формалином 24 ч, затем обезвоживали и пропитывали парафином в автоматизированном режиме в аппарате STP120 (Германия). Материал заливали в парафин, из него готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стёкла и высушивали при температуре 37°C в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности проводили при температуре 121°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-1,2,9 и ТИМП-1,2 (rabbit antihuman, “LabVision”, США) в готовом разведении. Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме в иммуногистостейнере Avtosteiner (“Dako”). В качестве детекционной системы использовали систему Envision (“Dako”), в качестве хромогена – диаминобензидин. Затем срезы докрасивали гематоксилином. Микроскопирование проводили на анализаторе изображения Leika Q 550. Интенсивность реакции оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3, учитывая выраженность реакции и её локализацию: 0 - отсутствие реакции, 1 - слабая реакция, 2 - умеренная реакция, 3 - сильная реакция. В таблице приведены режимы для использованных антител.

Таблица. Использованные антитела.

Наименование	Разведение	Условия демаскировки
<b>ММП-1</b> моноклональные	1:5	121°C, pH 6,0 цитратный буфер
<b>ММП-2</b> моноклональные	1:40	121°C, pH 6,0 цитратный буфер
<b>ММП-9</b> моноклональные	1:20	Без обработки
<b>ТИМП-1</b> моноклональные	1:20	121°C, pH 9,0 Трис-ЭДТА буфер
<b>ТИМП-2</b> моноклональные	1:30	121°C, pH 9,0 Трис-ЭДТА буфер

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** В образцах плоскоклеточных карцином шейки матки проведено исследование экспрессии интерстициальной коллагеназы - ММП-1, желатиназ - ММП-2 и ММП-9, а также их эндогенных ингибиторов - ТИМП-1 и ТИМП-2.

*Коллагенолитическая активность в лизатах образцов карцином шейки матки.* Исследование коллагенолитической активности (гидролиз фибриллярного коллагена) проводили в лизатах образцов опухоли и прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани. В качестве субстрата использовали флуорогенный коллаген I типа [14].

На рисунке 1 представлены результаты, полученные на пяти парах отдельных образцов, представляющих ткань опухоли и нормальную ткань. Полученные данные свидетельствуют о том, что коллагенолитическая

активность была обнаружена как в опухоли, так и в прилегающей к опухоли нормальной ткани. В первых трёх парах образцов активность в опухоли превышала активность в нормальной ткани (от 1,3 до 2,7 раза). В образцах 4 и 5 наблюдали обратную картину, активность в нормальной ткани превышала активность в опухоли (в 3 и 1,4 раза). При этом активность в опухоли была достаточно высокой во всех образцах, то есть экспрессия ММП была достаточно выраженной.

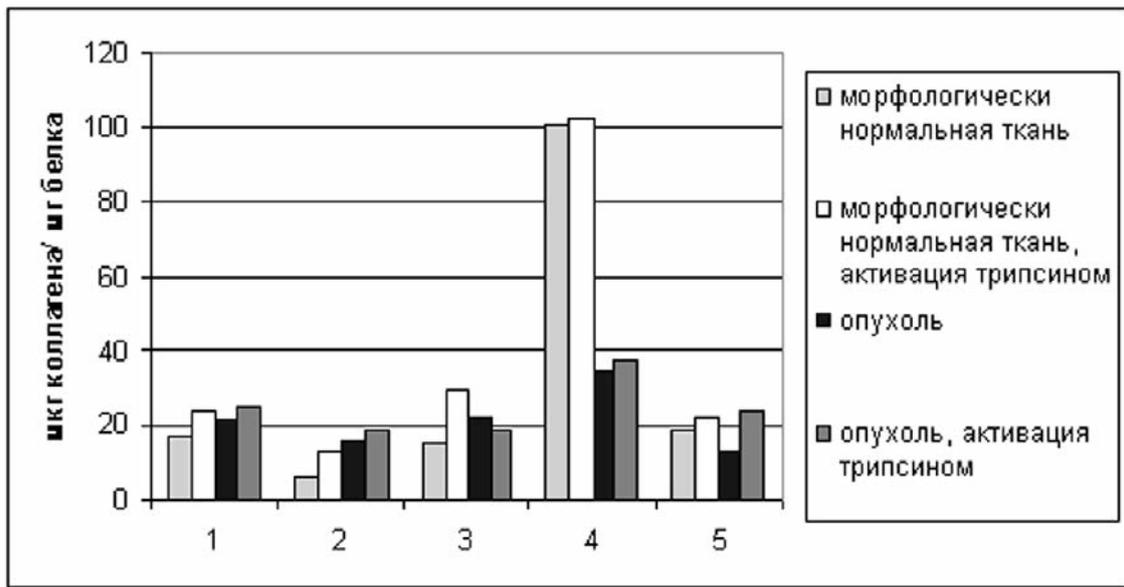


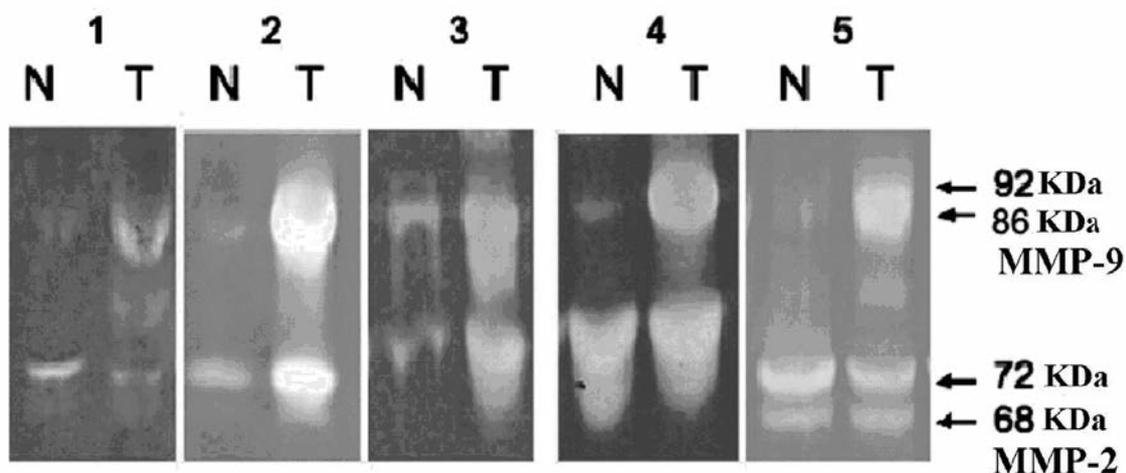
Рисунок 1.

Коллагенолитическая активность в образцах карцином шейки матки.

Активация трипсином приводила к увеличению активности в опухолевой и нормальной ткани, что свидетельствует о присутствии в них проколлагеназ, которые в физиологических условиях могут активироваться под действием эндогенных активаторов, главным из которых является плазмин. Полученные данные свидетельствуют о наличии значительного протеолитического потенциала, как в опухолевых клетках, так и в окружающей опухоль ткани. Результаты согласуются с литературными данными о том, что в ряде видов опухолей активность ММП в окружающей опухоль ткани была сравнима или существенно выше, чем в самой опухоли [19-21].

*Желатиназная активность в лизатах образцов карцином шейки матки.* Для процесса метастазирования опухолевых клеток критическим событием является преодоление базальных мембран, основным компонентом которых является коллаген IV типа. Ферментативной активностью по коллагену IV типа обладают желатиназы А и В (ММП-2 и ММП-9).

Спектр и активности ММП-2 и ММП-9 в образцах морфологически нормальных и опухолевых тканей исследовали методом зимографии. Работу проводили на 19 образцах карцином шейки матки и 11 образцах прилегающих к опухоли морфологически нормальной ткани. На рисунке 2 представлены результаты зимографии типичных опытов. Из полученных данных следует, что во всех образцах опухоли и контроля присутствовала ММП-2, причём в 61% образцов активность ММП-2 в опухоли была выше, чем в нормальной ткани, а в 39% - активность ММП-2 в норме была выше, чем в опухоли.



**Рисунок 2.**

Анализ желатиназной активности ММП-2 и ММП-9 с помощью метода зимографии.

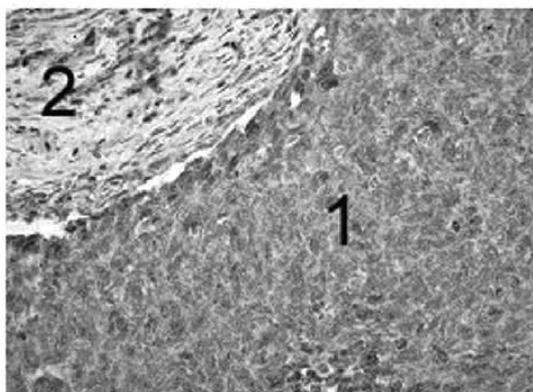
N - морфологически нормальная ткань, T - ткань опухоли.

Известно, что ММП-2 относится к конститутивным ферментам, который присутствует и в нормальных тканях, в то время как ММП-9 относится к индуцируемым ферментам, экспрессия которых зависит от факторов, индуцирующих её синтез. Ярко выраженная экспрессия ММП-9 отмечена в 94% образцов опухолей. Активность ММП-9 была резко увеличена во всех образцах опухоли по сравнению с нормой, где она присутствовала в очень незначительных количествах или не определялась совсем. Следует отметить, что в прилегающей к опухоли нормальной ткани активность ММП-9 обнаружена в 70% образцов, хотя и была значительно ниже, чем в опухоли, и только в 30% случаев в нормальной ткани активность ММП-9 не была обнаружена. Эти результаты согласуются с литературными данными о том, что в основном экспрессия ММП-9 обнаружена в клетках опухолей [22, 23].

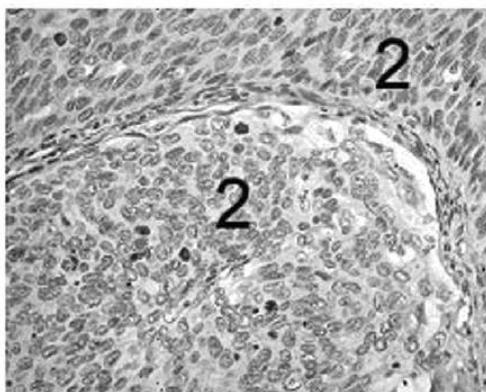
Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспрессия ММП-2 и ММП-9 происходит не только в опухолевых клетках, но и в прилегающей к ним морфологически нормальной ткани.

*Иммуногистохимическое исследование экспрессии ММП-1, ММП-2, ММП-9, а также ТИМП-1 и ТИМП-2.* Исследование экспрессии ММП-1, ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 методом иммуногистохимии было проведено на 24 образцах карцином шейки матки. Оценка результатов проводилась по интенсивности реакции полуколичественным методом по 3-х балльной шкале (от 0 до 3 баллов). На рисунке 3 представлены результаты иммуногистохимической реакции с соответствующими антителами к ММП и ТИМП в некоторых характерных образцах карцином шейки матки с различной выраженностью экспрессии. Из полученных данных следует, что экспрессия ММП-1, ММП-2 и ММП-9 была ярко выражена, в то время как экспрессия ингибиторов – ТИМП-1 и ТИМП-2 либо отсутствовала, либо была выражена значительно слабее (ТИМП-2).

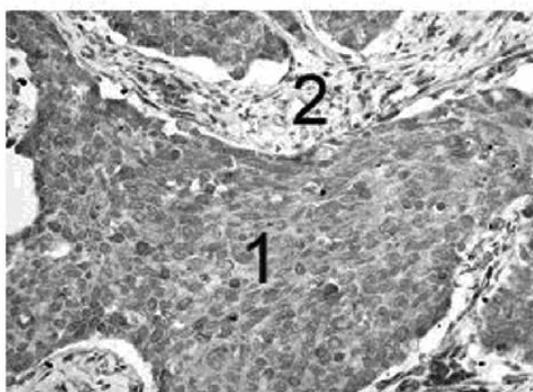
Для сравнительного иммуногистохимического анализа материал был разделён на две группы с учетом наличия (N+) или отсутствия (N-) метастазов в региональные лимфатические узлы. Было выделено 13 образцов опухолей без метастазов (N-) и 11 образцов опухолей, в которых были обнаружены неотдаленные метастазы в региональные лимфоузлы (N+).



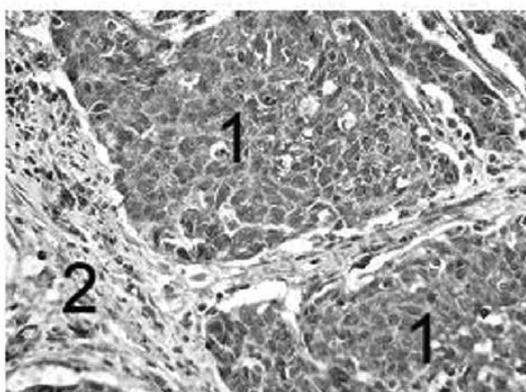
ММП-1, интенсивность реакции 3+



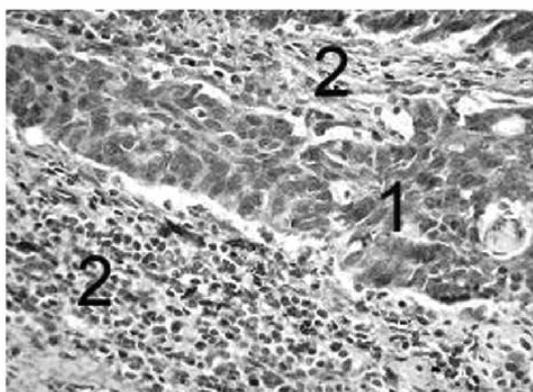
ТИМП-1, реакция отсутствует



ММП-2, интенсивность реакции 3+



ММП-9, интенсивность реакции 3+



ТИМП-2, интенсивность реакции 2+

**Рисунок 3.**

Экспрессия ММП-1, ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 в образцах плоскоклеточных карцином шейки матки. Увеличение  $\times 400$ .

1 - ИГХ реакция присутствует; 2 - ИГХ реакция отсутствует.

Во всех без исключений образцах опухолей, где были обнаружены метастазы, была обнаружена ММП-1 (100%), причём в большинстве случаев (82%) экспрессия оценивалась в 2-3 балла, в образцах без метастазов высокая экспрессия ММП-1 была обнаружена только в 29% случаев, в остальных

## ММП, ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ПРИ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

образцах она была низкой или отсутствовала. Экспрессия ММП-9 обнаружена в 90% образцов, из них в 80% экспрессия была наивысшей и оценивалась в 2-3 балла, в 10% - в 1 балл и в 10% отсутствовала (рис. 4). Выраженных различий в экспрессии ММП-2 в образцах с метастазами и без метастазов обнаружено не было, причём в образцах без метастазов высокая активность ММП-2 была обнаружена даже в большем количестве образцов, чем в случае образцов с метастазами). Слабая экспрессия ТИМП-1 и ТИМП-2 наблюдалась как в образцах метастазирующих опухолей, так и в опухолях без метастазов.

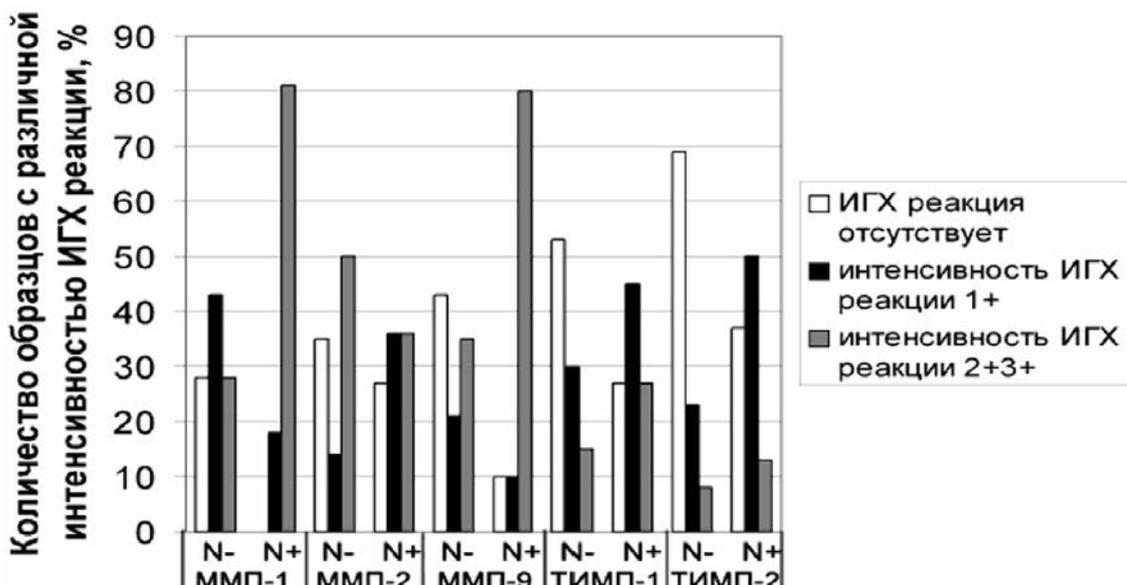


Рисунок 4.

Зависимости уровней экспрессии ММП и их ингибиторов от наличия метастазов в образцах карцином шейки матки.

Корреляционный анализ результатов показал, что данные по степени дифференцировки клеток опухоли имеют обратную корреляцию с высоким уровнем экспрессии ММП-1, ММП-2 и ММП-9 (коэффициенты корреляции 0,5, 0,43 и 0,36 соответственно), а данные по экспрессии ММП-1 и ММП-9 имеют прямую корреляцию с данными о наличии метастазов (коэффициенты корреляции 0,4 и 0,37 соответственно).

Имеющиеся в литературе данные по экспрессии ММП-1, ММП-2, ММП-9 в карциномах шейки матки очень противоречивы, а в случае ММП-1 – незначительны. Одни авторы [24] указывают на корреляцию развития инвазивного процесса и метастазов в близлежащие лимфатические узлы с увеличением экспрессии ММП-1, но не ММП-2 и ТИМП-2. Другие исследователи обнаружили значительную экспрессию ММП-1, ММП-2, ММП-9 в тканях карцином шейки матки [25] и образцах опухолей, находящейся на разных стадиях дифференцировки [26].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что основной вклад в деструктивный (инвазивный) потенциал HPV-положительных карцином шейки матки, экспрессирующих ген E7 HPV16, вносят увеличение экспрессии ММП-1 и ММП-9 и низкая экспрессия ТИМП-1 и ТИМП-2, и в меньшей

степени – увеличение экспрессии ММП-2. Более того, в прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани обнаружена экспрессия ММП-1, ММП-2, ММП-9, которая вносит свой дополнительный вклад в увеличение деструктивного потенциала опухоли.

Данные важны для понимания механизма деструкции матрикса и развития процессов инвазии и метастазирования, имеют прогностическое значение и могут определять мишени для разработки фармакологических средств.

Авторы выражают глубокую благодарность кбн Н.П. Киселевой и чл. кор. РАМН Ф.Л. Киселеву (лаборатория молекулярной биологии вирусов Института канцерогенеза ОНЦ РАМН) за поддержку и помощь в работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 10-04-01573а).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Nagase H., Visse R., Murphy G. (2006) Cardiovascular Research, **69**, 562-573.
2. Pitliak M., Vargova V., Mechirova V. (2012) Oncologie, **35**, 49-53.
3. Hadler-Olsen E., Fadnes B., Sylte I., Uhlin-Hansen H., Winberg J.O. (2011) FEBS J., **278**, 28-45.
4. Libra M., Scalisi A., Vella N., Clement S., Sorio R. (2009) Int. J. Oncol., **34**, 897-903.
5. Ala-Aho R., Kahari V.-M. (2005) Biochemie, **87**, 273-286.
6. Malemud C.J. (2006) Front Biosci., **11**, 1696-1701.
7. John A., Tuszyński G. (2001) Pathology Oncology Research, **7**(1), 14-23.
8. Deryugina E.I., Quigley J.P. (2006) Cancer Metastasis Rev., **25**, 9-34.
9. Fingleton B. (2006) Front Biosci., **1**(11), 479-491.
10. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G. (2002) J. Cell Sci., **115**, 3719-3727.
11. Longworth M.S., Laimins L.A. (2004) Microbiol. Molec. Biol. Rev., **68**, 362-372.
12. Munger K., Baldwin A., Edwards K. et al. (2004) J. Virology, **78**, 11451-11460.
13. Um S.-J., Lee S.-Y., Kim E.-J., Myoung J. (2002) Cancer Lett. **181**, 11-22.
14. Рыжакова О.С., Соловьева Н.И. (2005) Биомед. химия, **51**, 432-438.
15. Соловьева Н.И., Рыжакова О.С. (2010) Клин. лаб. диагн., **2**, 17-22.
16. Murphy G., Crabbe T. (1995) Methods Enzymology, **248**, 470-484.
17. Leber T.M., Balkwill F.R. (1997) Anal. Biochem., **249**, 24-28.
18. Dabbs Ed.D.J. (2006) Diagnostic Immunohistochemistry, 2 ed., Philadelphia.
19. Fernandes T., de Angelo-Andrade L.A., Morais S.S., Pinto G.A. et al. (2008) Eur. J. Gynaecol. Oncol., **29**, 341-344.
20. Okada A., Bellocq J.P., Rouyer N., Chenard M.P. et al. (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **92**, 2730-2734.
21. Määttä M., Soini Y., Liakka A., Autio-Harmainen H. (2000) Clin. Cancer Res., **6**, 2726-2734.
22. Sheu B.C., Lien H.C., Ho H.N., Lin H.H., Chow S.N., Huang S.C., Hsu S.M. (2003) Cancer Res., **63**, 6537-6542.
23. Arguello-Ramirez J., Perez-Cardenas E., Delgado-Chavez R. et al. (2004) Int. J. Gynecol. Cancer, **14**, 333-340.
24. Moser P.L., Heffler L., Tempfer C., Neunteufel W., Kieback D.G., Gitsch G. (1999) Anticancer Res., **19**, 2365-2367.

25. Sheu B., Ysu S., Ho H. (2001) *Cancer Res.*, **61**, 237-242.  
26. Brummer O., Bohmer G., Hollwitz B., Flemming P., Petry K.U., Kuhnle H. (2002) *Gynecologic Oncology*, **84**, 222-227.

Поступила: 05. 07. 2012.

**INTERSTITIAL COLLAGENASE, GELATINASES A AND B AND THEIR ENDOGENOUS INHIBITORS IN SQUAMOUS CELL CERVICAL CARCINOMAS**

*O.S. Ryzhakova<sup>1</sup>, L.E. Zavalishina<sup>2</sup>, Ju.Ju. Andreeva<sup>2</sup>, N.I. Solovyeva<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Orechovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia; tel.: 8-499-246-50-72;  
e-mail: nina.solovyeva@ibmc.msk.ru

<sup>2</sup>Hertsen Research Oncological Institute, Moscow, Russia

Interstitial collagenase and gelatinases are matrix metalloproteinases (MMP), which play the key role in tumor invasion and metastasis. The aim of this study was to elucidate the peculiarities of expression of interstitial collagenase (MMP-1), gelatinases A and B (MMP-2 and MMP-9) and their endogenous tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as invasive factors of squamous cell carcinomas (SCC) of human cervical cancer. The study was carried out using 24 specimens of SCC and 11 specimens of adjacent to tumor morphologically normal tissue. All carcinoma specimens expressed E7 HPV-16 gene. It was shown that the increase of MMP-1 and MMP-9 expression and low of TIMP-1 and TIMP-2 expression makes the main contribution to the destructive (invasive) potential of SCC. The change of MMP-2 expression is not so significant and it is less influenced to the destructive potential. Moreover, substantial expression of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 was registered in the specimens of morphologically normal adjoining to tumor tissue. This expression was found to make an additional contribution to the destructive potential of cervical tumor.

**Key words:** matrix metalloproteinases (MMP) - MMP-1,-2,-9, tissue inhibitors of MMPs - TIMP-1 and TIMP-2, cervical squamous cell carcinoma.