

Артем Сергеевич Зенюков¹, Татьяна Федоровна Боровская²,
Иван Сократович Стилиди³, Максим Петрович Никулин⁴,
Элла Хансовна Курпас⁵, Татьяна Владимировна Зенюкова⁶,
Сергей Викторович Беков⁷, Степан Богданович Сагайдак⁸

ЭКСПРЕССИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ-2 И -9 ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

¹ Аспирант, хирургическое отделение абдоминальной онкологии торакоабдоминального отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Д. м. н., профессор, директор, Хабаровский филиал РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (680042, РФ, г. Хабаровск, Воронежское шоссе, г. 164)

³ Д. м. н., профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий, хирургическое отделение абдоминальной онкологии торакоабдоминального отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ К. м. н., старший научный сотрудник, хирургическое отделение абдоминальной онкологии торакоабдоминального отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ К. м. н., врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение ГУЗ «Краевой клинический центр онкологии» (680042, РФ, г. Хабаровск, Воронежское шоссе, г. 164)

⁶ Аспирант, патологоанатомическое отделение отдела патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁷ Заведующий, патологоанатомическое отделение ГУЗ «Краевой клинический центр онкологии» (680042, РФ, г. Хабаровск, Воронежское шоссе, г. 164)

⁸ Заведующий, онкологическое отделение №1 ГУЗ «Краевой клинический центр онкологии» (680042, РФ, г. Хабаровск, Воронежское шоссе, г. 164)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, абдоминальное отделение торакоабдоминального отдела, Зенюков Артем Сергеевич; e-mail: misterzu@rambler.ru

Матриксные металлопротеиназы-2 и -9 могут разрушать коллаген IV типа внеклеточного матрикса и базальных мембран. Образцы опухолей желудка получены от пациентов (n = 91), прооперированных по поводу рака. Экспрессию металлопротеиназ-2 и -9 определяли иммуногистохимическим методом. Гиперэкспрессия металлопротеиназ-2 и -9 была выявлена в 50,5 и 54,9% случаев рака желудка соответственно. Экспрессия металлопротеиназ-2 и -9 коррелировала со стадией (p = 0,002; p = 0,004), с глубиной инвазии (p = 0,002; p < 0,001) и частотой лимфогенных метастазов (p < 0,001; p = 0,088). Гиперэкспрессия металлопротеиназы-9 ассоциируется с сокращением безрецидивной и общей выживаемости (p = 0,008; p = 0,003).

Ключевые слова: рак желудка, матриксные металлопротеиназы MMP-2 и MMP-9.

Последние исследования механизмов опухолевой прогрессии продемонстрировали, что матриксные металлопротеиназы (ММП) играют ключевую роль в инициации процессов ангиогенеза, инвазии и метастазирования [1—4].

© Зенюков А. С., Боровская Т. Ф., Стилиди И. С., Никулин М. П., Курпас Э. Х., Зенюкова Т. В., Беков С. В., Сагайдак С. Б., 2010
УДК 616.33-006.6-091:577.112.854

ММП относятся к семейству цинковых металлопротеиназ — протеолитических ферментов, расщепляющих основные компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ) [5; 6]. ММП синтезируются и секретируются целым рядом клеток, включая активированные макрофаги, базофилы, нейтрофилы, фибробласты, гладкие мышечные и эндотелиальные клетки сосудистой стенки. Эти протеиназы играют важную роль как в процессах нормального физиологического развития матрикса (репарация, заживление ран, рост плаценты), так и при различ-

ных патологических состояниях (ревматоидный артрит, гепатит, дистрофия миокарда), в том числе при онкогенной трансформации [1; 3; 5; 7; 8]. Опухолевые клетки секретируют ММР самостоятельно и индуцируют образование протеиназ клетками ВКМ.

Все ММР образуются из неактивных предшественников и в физиологических условиях содержатся в тканях в незначительных количествах. Регуляция их активности осуществляется эндогенными активаторами и ингибиторами. Основным физиологическим активатором является плазмин. Среди ингибиторов ММР описаны неспецифические ингибиторы (α_2 -макроглобулины) и тканевые ингибиторы (ТИМР-1—4). В нормальных тканях уровни ММР/ТИМР динамично уравновешены, но их соотношение меняется в процессе опухолевой прогрессии [1; 2; 8—10].

ММР способны разрушать практически все компоненты ВКМ: коллагены всех типов, эластин, протеогликаны, неколлагеновые гликопротеины (фибронектин). Эти протеиназы влияют на миграцию, дифференцировку и пролиферацию опухолевых клеток.

Кроме того, исследования, выполненные в последние годы, позволили открыть новые функции ММР в опухолевой прогрессии: участие в выходе депонированных факторов роста, расщепление некоторых биоактивных молекул с образованием веществ с новыми биологическими свойствами, мощный ангиогенный эффект, поддержание жизнеспособности опухолевых клеток [1—3; 8; 9; 11; 12]. Учитывая перечисленные свойства, ММР можно отнести к наиболее важным факторам агрессивности опухолевого роста.

ММР-2 и ММР-9 (желатиназа А/коллагеназа-2 и желатиназа В/коллагеназа-9, гены которых локализованы в хромосомах 16q13 и 20q11.2—q13.1 соответственно) — ферменты молекулярной массой 72 и 94 кД, основная функция которых связана с расщеплением нефибриллярного коллагена IV типа, образующего базальную мембрану [9; 13]. Последние данные литературы позволяют считать, что именно эти протеиназы способствуют процессам опухолевого роста, облегчают раковую инвазию и являются наиболее перспективными маркерами метастазирования [8; 9].

Ряд исследований продемонстрировал, что высокий уровень экспрессии и активности желатиназ наблюдается в опухолях человека различных локализаций, таких, как рак легкого, рак толстой кишки, поджелудочной железы, мочевого пузыря, почки, яичника, пищевода, тела матки, опухоли головы и шеи [13—16].

Большинство работ сосредоточено на изучении влияния экспрессии ММР-2 и ММР-9 на метастатический потенциал рака желудка (РЖ). Показана важная роль ферментов в лимфогенном распространении опухоли. Отмечена корреляция различной степени между уровнем экспрессии ММР-2 и ММР-9 в первичной опухоли и наличием у больных РЖ метастазов в лимфатических узлах [17; 18]. При многофакторном статистическом анализе выявляется корреляция между экспрессией ферментов и общей выживаемостью в дополнение к статусу метастазирования и стадии опухолевого процесса. В некоторых работах показано, что для больных РЖ с повышенной экспрессией ММР-2 и ММР-9 в опухолях

характерно снижение как общей, так и безрецидивной выживаемости после хирургического лечения по сравнению с таковой у пациентов с низкой активностью ферментов. В то же время не все исследователи обнаруживали достоверную взаимосвязь между экспрессией ММР-2 и выживаемостью больных РЖ [18; 19].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено проспективное исследование у 91 пациента РЖ после хирургического лечения в клинике ГУЗ «Краевой клинический центр онкологии» Хабаровска за период с 1 июля 2007 г. по 30 июня 2009 г.

Прослежены 85,7% больных, у которых оценено влияние уровня экспрессии ММР-2 и ММР-9 на выживаемость.

Распространенность опухоли оценивали согласно принятой 6-й редакции классификации TNM (UICC, 2002). В исследование включены 3 пациента с 0 стадией заболевания, 17 — с I, 19 — со II, 25 — с III и 26 — с IV. Один пациент оперирован с рецидивной опухолью. Для оценки влияния уровня экспрессии ММР-2 и ММР-9 мы объединили пациентов в группы с локализованными формами рака (0, I, II стадия заболевания) — 39 больных и с местнораспространенными и диссеминированными формами опухоли (III, IV стадии) — 51 пациент. Высокую степень гистологической дифференцировки опухоли выявили у 5 больных, умеренную — у 22, низкую — у 64.

Иммуногистохимическое исследование выполнено на серийных парафиновых срезах ткани первичной опухоли желудка с помощью биотин-стрептавидинового иммунопероксидазного метода с антителами к ферментам внеклеточного матрикса ММР-2 Mouse Ab-1 (клон СА-4001) и ММР-9 Rabbit («LabVision», США) в разведении 1:50.

Срезы толщиной 3—5 мкм депарафинизировали и регидратировали по стандартной схеме. Для демаскировки антигенов проводили предварительную обработку парафиновых срезов в микроволновом режиме при мощности 650 Вт 2 раза по 5 с, используя восстанавливающий раствор pH 6,0 («Dako», Дания) с перерывом 2 с между процедурами для охлаждения. Срезы инкубировали с первичными антителами на протяжении 18 ч при температуре 4 °С.

В качестве вторичных антител и пероксидазного комплекса применяли стандартный набор реагентов «LSAB + Kit» или систему «Ultra Vision One HRR Polymer» (Rabbit, Mouse) («LabVision», США). Для визуализации реакции применяли раствор диаминобензидина DAB + («Dako», Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Контрольный срез оставляли без первой инкубации. Готовили негативный и позитивный контроль.

Оценку реакции в клетках первичных опухолей проводили полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антигенпозитивных клеток, которые в совокупности определяют уровень экспрессии белковых маркеров (высокий или низкий). Иммуногистохимическую реакцию оценивали как негативную («—» — нет реакции), слабопозитивную («+» — < 10% окрашенных клеток), умереннопозитивную («++» — > 10% клеток средней интенсивности

окраски) и сильнопозитивную («+++» — > 10% клеток высокой интенсивности окраски).

Для дальнейшего сравнительного иммуногистохимического исследования выделяли два основных уровня иммунореактивности: низкий уровень, или редуцированная экспрессия белков (−/+), и высокий уровень, или гиперэкспрессия маркеров (+/+ + +).

Статистический анализ. Статистические параметры рассчитывали в программе «Statistica 6 for Windows». Достоверность различий качественных показателей определяли по непараметрическому критерию χ^2 либо (при значении ожидаемых чисел меньше 5) по двустороннему варианту точного критерия Фишера. Для выявления корреляций между параметрами вычисляли коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Выживаемость рассчитывали с помощью метода Каплана—Майера (1958). Статистическую значимость различий выживаемости определяли по логранговому критерию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При иммуногистохимическом определении MMP-2 и MMP-9 в первичных опухолях больных РЖ выявлена увеличенная экспрессия протеиназ на разных стадиях заболевания, при этом накопление ферментов происходило в цитоплазме раковых клеток и компонентах стромы вокруг опухолевых комплексов (фибробластах, макрофагах, стенках сосудов, лейкоцитарных элементах).

Увеличенная экспрессия MMP-2 в цитоплазме клеток первичных опухолей (рис. 1) обнаружена в 75 из 91 (82,4%) изученного случая РЖ, из них в 37 (40,6%) случаях интенсивность реакции была умереннопозитивной (++) и в 9 (9,9%) — сильнопозитивной (+++). Слабопозитивная реакция (+) отмечена в 29 (31,8%) случаях и негативная (−) — в 16 (17,6%). Высокий уровень иммунореактивности был характерен для клеток умереннодифференцированных опухолей желудка в большей степени, чем для высоко- и низкодифференцированных. В компонентах ВКМ вокруг опухолевых комплексов MMP-2 выявляли в 54 из

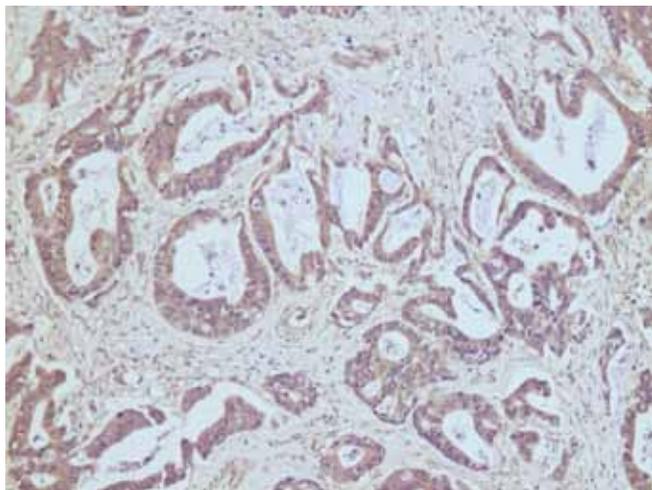


Рисунок 1. Экспрессия MMP-2 в цитоплазме клеток при раке желудка. Иммуногистохимическая реакция с антителами к MMP-2 Mouse Ab-1 (клон CA-4001) (×100).

91 (59,3%) случая. Интенсивность окрашивания компонентов ВКМ не была связана со степенью дифференцировки опухоли и зависела от характера стромы.

Увеличенное накопление MMP-9 в цитоплазме клеток первичных опухолей выявили в 73 из 91 (80,2%) исследованного случая РЖ. Из них умереннопозитивная реакция (++) отмечалась в 35 (38,5%) случаях наблюдений и сильнопозитивная (+++) — в 15 (16,5%). Слабопозитивную цитоплазматическую экспрессию фермента выявляли в 23 (25,3%) наблюдениях, негативную — в 18 (19,8%). Во внеклеточной строме MMP-9 содержалась в 35 из 91 (38,5%) случая (рис. 2). Цитоплазматическая реакция высокой интенсивности часто наблюдалась при низкодифференцированном РЖ, а редуцированная или очаговая экспрессия маркера — в структурах высоко- и умереннодифференцированных опухолей желудка. Как правило, выявлялось гомогенное окрашивание цитоплазмы раковых клеток. В 26 (28,6%) случаях особенно интенсивное накопление MMP-9 в цитоплазме раковых клеток железистых структур наблюдалось в зонах инвазивного фронта опухолей, иногда в клетках стромы вокруг инвазивного края новообразования. Раковые комплексы, лежащие по периферии, окрашивались маркером более ярко, чем опухолевые структуры в центральных участках.

При анализе уровня экспрессии MMP-2 и MMP-9 выявлена положительная корреляция между двумя белками ($r_s = 0,458$; $p < 0,001$).

Экспрессия ферментов в опухолях больных РЖ зависела от ряда клинико-морфологических характеристик заболевания (табл. 1).

Повышенная экспрессия протеиназ сочеталась с увеличением глубины опухолевой инвазии и стадии заболевания (различия статистически значимы во всех исследуемых группах для MMP-2 и MMP-9). По результатам проведенного анализа выявлена связь гиперэкспрессии MMP-2 и MMP-9 с размерами опухоли. Размеры более 4 см статистически значимо чаще встречались при гипер-

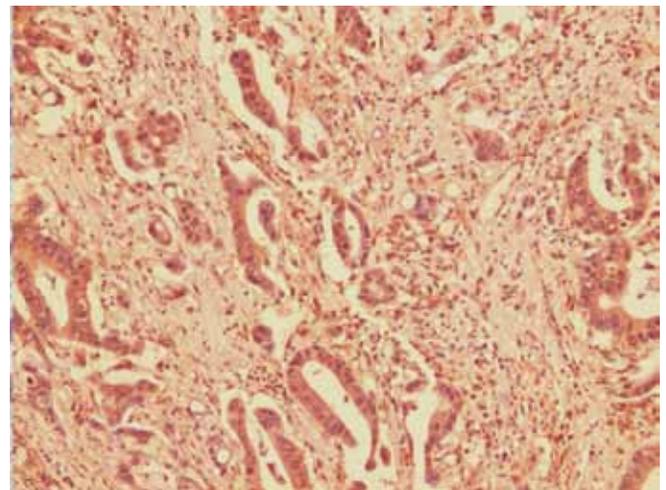


Рисунок 2. Гиперэкспрессия MMP-9. Сочетание экспрессии в цитоплазме опухолевых клеток и ВКМ. Иммуногистохимическая реакция с антителами к MMP-9 Rabbit (×100).

Таблица 1

Зависимость экспрессии MMP-2 и MMP-9 при РЖ от клинично-морфологических признаков

Признак	Экспрессия MMP-2		p ^a	Экспрессия MMP-9		p ^a
	высокая (n = 46)	низкая (n = 45)		высокая (n = 50)	низкая (n = 41)	
Возраст, годы						
≥ 60	20	27	0,172	27	20	0,776
< 60	26	18		23	21	
Пол						
мужской	24	22	0,654	23	23	0,455
женский	22	23		27	18	
Степень инвазии						
Tis, T ₁ , T ₂	6	20	0,002	6	20	< 0,001
T ₃ , T ₄	40	25		44	21	
Локализация опухоли						
нижняя треть	10	16	0,222	11	15	0,089
средняя треть	23	18		24	17	
верхняя треть	8	9		8	9	
тотально	5	1		6	0	
резецированный желудок	0	1		1	0	
Макроскопический тип						
ранний	1	4	0,088	2	3	0,099
B-I	2	6		4	4	
B-II	7	11		6	12	
B-III	27	15		24	18	
B-IV	9	9		14	4	
Размеры опухоли, см						
< 4	14	26	0,014	14	26	0,002
> 4	30	17		33	14	
Степень дифференцировки						
высокая	2	3	0,477	3	3	0,317
умеренная	9	13		9	13	
низкая	35	29		38	26	
Стадия						
0—II	12	27	0,002	14	25	0,004
III—IV	34	17		35	16	
Метастазы в лимфатических узлах						
pN+	35	15	< 0,001	32	18	0,088
pN0	11	30		18	23	

^a Оценка с помощью критерия χ^2 .

экспрессии ММР-2 и ММР-9 ($p = 0,014$ и $p = 0,002$ соответственно).

Статистически значимое влияние гиперэкспрессии протеиназ в первичной опухоли желудка на частоту лимфогенных метастазов выявлено для ММР-2 ($76,1\%$; $p < 0,001$). В группе больных РЖ с высокой экспрессией ММР-9 лимфогенные метастазы обнаружены у 32 из 50 ($64,0\%$), а среди больных с низкой экспрессией белка в опухоли — у 18 из 41 ($43,9\%$) ($p = 0,088$).

Уровень экспрессии ферментов повышался при В-III — В-IV макроскопическом типе опухоли по R. Vogtmann (1926) и низкой степени дифференцировки, однако различия не достигали статистической значимости.

Высокий уровень экспрессии ММР-9 в клетках РЖ являлся значимым показателем неблагоприятного исхода заболевания и у больных РЖ, которые умерли в ранние сроки после хирургического лечения от прогрессирования заболевания, наблюдался значительно чаще, чем у пациентов с благоприятным прогнозом заболевания. Частота прогрессирования у больных РЖ с гиперэкспрессией ММР-9 составила $42,8\%$ (18 случаев из 42), а при редуцированной экспрессии ММР-9 — $16,2\%$ (6 случаев из 37) ($p = 0,014$).

По результатам анализа кривых выживаемости констатировано, что безрецидивная выживаемость (БРВ) в группе пациентов с гиперэкспрессией ММР-9 стала сокращаться начиная с 3-го месяца после операции (рис. 3) и соответственно составила годовая — $54,8 \pm 8,8\%$, трехлетняя — $39,1 \pm 11,3\%$; медиана продолжительности жизни 15 мес. Различия по БРВ по сравнению с группой пациентов, у которых определялся сниженный уровень экспрессии ММР-9, достигли статистической значимости ($\chi^2 = 8,112$; $df = 1$; $p = 0,008$, логранговый критерий).

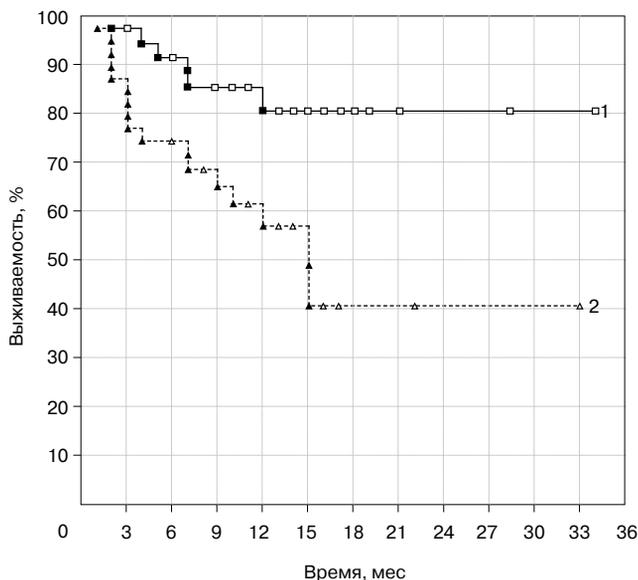


Рисунок 3. БРВ больных РЖ в зависимости от уровня экспрессии ММР-9. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — ММР-9 -/+; 2 — ММР-9 ++/+++. $p = 0,008$.

Анализ результатов общей выживаемости (ОВ) по уровню экспрессии ММР-9 также продемонстрировал достоверные различия по выживаемости ($\chi^2 = 8,294$; $df = 1$; $p = 0,003$, логранговый критерий). ОВ больных РЖ с гиперэкспрессией ММР-9 составила соответственно годовая — $62,4 \pm 8,2\%$, трехлетняя — $40,5 \pm 11,6\%$, а при редуцированной экспрессии — $90,9 \pm 5,0$ и $76,4 \pm 10,5\%$ (рис. 4).

Меньшую роль в оценке выживаемости играла экспрессия ММР-2. Высокий уровень экспрессии ММР-2 в клетках РЖ являлся показателем неблагоприятного исхода заболевания и у больных РЖ, которые умерли в ранние сроки после хирургического лечения от прогрессирования заболевания, наблюдался значительно чаще, чем у пациентов с благоприятным прогнозом заболевания. Частота прогрессирования у больных РЖ с гиперэкспрессией ММР-2 составила $40,5\%$ (15 случаев из 37), а при редуцированной экспрессии ММР-2 — $21,4\%$ (9 случаев из 42) ($p = 0,087$).

В группе больных, у которых выявлена гиперэкспрессия ММР-2 в опухоли, отмечено сокращение БРВ начиная с 15-го месяца после операции по сравнению с больными с низким уровнем экспрессии данного белка и составили годовая — $58,5 \pm 9,3\%$, трехлетняя — $43,8 \pm 11,3\%$ (рис. 5). Однако различия по выживаемости не достигли статистической значимости ($\chi^2 = 2,809$; $df = 1$; $p = 0,104$, логранговый критерий).

Повышенное содержание ММР-2 в опухоли связано с сокращением ОВ (рис. 6). При высоких уровнях экспрессии маркера трехлетняя ОВ составила $43,2 \pm 13,1\%$, умерли 12 из 37 ($32,4\%$) прослеженных больных, медиана продолжительности жизни составила 16 мес. При низком уровне ММР-2 трехлетняя ОВ составила $70,1 \pm 8,8\%$,

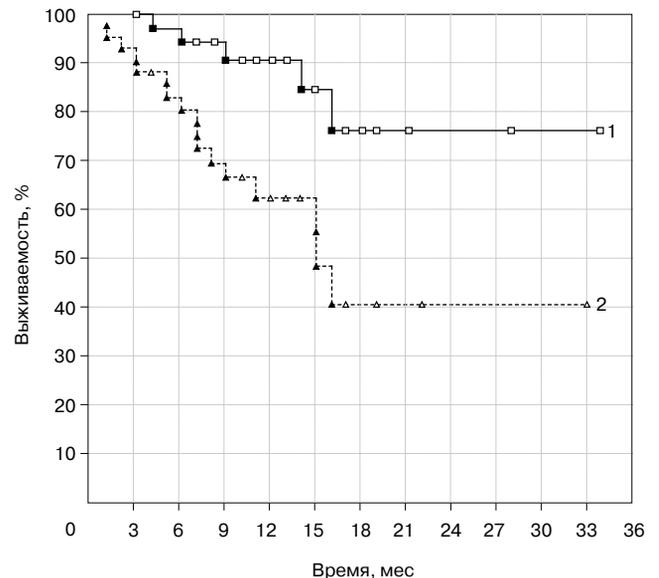


Рисунок 4. ОВ больных РЖ в зависимости от уровня экспрессии ММР-9. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — ММР-9 -/+; 2 — ММР-9 ++/+++. $p = 0,003$.

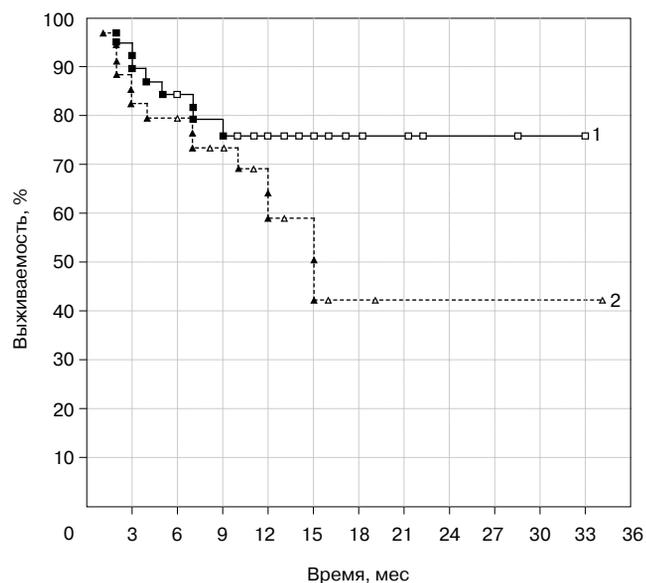


Рисунок 5. БРВ больных РЖ в зависимости от уровня экспрессии MMP-2. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — MMP-2 -/+; 2 — MMP-2 ++/+++. $p = 0,104$.

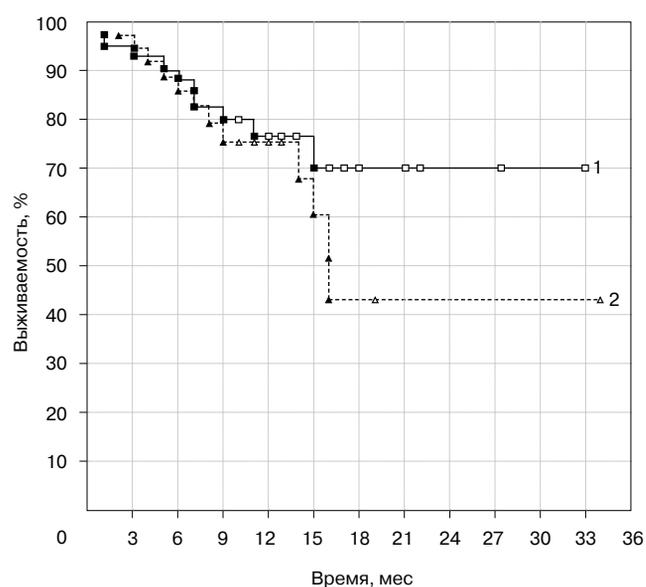


Рисунок 6. ОВ больных РЖ в зависимости от уровня экспрессии MMP-2. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — MMP-2 -/+; 2 — MMP-2 ++/+++. $p = 0,346$.

медиана продолжительности жизни не достигнута ($\chi^2 = 0,885$; $df = 1$; $p = 0,346$, логранговый критерий).

Учитывая малое количество пациентов в группах, сформированных в зависимости от стадии заболевания, мы сравнили влияние уровня экспрессии металлопротеиназ на выживаемость в подгруппах пациентов с локализованной (0—II стадии; $n = 39$), а также с местнораспространенными и диссеминированными формами РЖ (III—IV стадии; $n = 51$). При этом выявлено статистически значимое снижение трехлетней БРВ у больных с локализованными формами РЖ (0—II стадии) при гиперэкспрессии MMP-9 ($p = 0,047$). Во всех остальных группах повышен-

ный уровень экспрессии металлопротеиназ ассоциировался со снижением выживаемости, но различия не достигали статистической значимости (табл. 2).

Следует отметить, что прогностическая значимость содержания MMP-9 зависела от степени дифференцировки опухоли желудка: различия выживаемости при высоких (+ + / + + +) и низких (- / +) уровнях экспрессии протеиназы были статистически значимыми у пациентов с низкой степенью дифференцировки опухоли ($n = 64$; $p = 0,005$), и кривые выживаемости не различались у пациентов с умеренной степенью дифференцировки ($n = 22$; $p = 0,248$). При высокой степени дифференци-

Таблица 2

Трехлетняя выживаемость пациентов РЖ в зависимости от уровня экспрессии MMP и стадии заболевания, %

Стадия	Экспрессия MMP-2			Экспрессия MMP-9		
	высокая (n = 46)	Низкая (n = 45)	p^a	высокая (n = 50)	низкая (n = 41)	p^a
ОВ						
0/I/II	66,7 ± 19,2	90,5 ± 6,5	0,658	77,9 ± 14,1	79,1 ± 13,8	0,301
III/IV	40,3 ± 18,1	54,5 ± 11,9	0,801	38,0 ± 11,9	79,4 ± 10,6	0,052
БРВ						
0/I/II	62,3 ± 17,9	94,7 ± 5,1	0,108	40,7 ± 29,4	91,7 ± 8,0	0,047
III/IV	21,1 ± 16,6	48,5 ± 13,4	0,632	27,8 ± 11,8	65,5 ± 12,6	0,231

^a Оценка с помощью критерия log-rank.

ровки все пациенты данной группы живы и находятся под наблюдением без признаков прогрессирования.

При анализе прогностической ценности содержания MMP-2 с учетом степени гистологической дифференцировки опухоли отмечена такая же зависимость, как при анализе экспрессии MMP-9, однако кривые ОВ статистически значимо не различались.

ОБСУЖДЕНИЕ

С внедрением иммуногистохимического метода диагностики в повседневную практику врачи получили потенциальную возможность оценить индивидуальный прогноз для больного, опираясь на уровни экспрессии MMP-2 и MMP-9. В нашем исследовании в 46 из 91 (50,5%) случая опухолей желудка выявлена гиперэкспрессия MMP-2 и в 50 из 91 (54,9%) — экспрессия MMP-9. Полученные нами результаты соответствуют данным литературы по изучению экспрессии металлопротеиназ при РЖ. Высокий уровень экспрессии MMP-2 выявляли в 55,6—74% опухолей желудка [18; 19], а высокий уровень MMP-9 — в 14—65,2% [18].

Мы продемонстрировали статистически значимую связь между экспрессией MMP-2 и MMP-9 и местным распространением опухоли, ее размерами. При опухолях с гиперэкспрессией MMP-2 отмечена более высокая частота метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($p < 0,001$).

Несмотря на короткие сроки наблюдения после хирургического лечения, мы выявили сокращение ОВ и БРВ при гиперэкспрессии MMP-9.

Осознание механизмов опухолевой инвазии и метастазирования, а также возможность определения патологического уровня белков позволяют использовать молекулярно-нацеленных (так называемых таргетных) препаратов в адъювантном режиме. С 2000 г. проводятся исследования по применению антиангиогенного препарата из группы ингибиторов металлопротеиназ — маримастата. Продемонстрированы результаты III фазы рандомизированного плацебо-контролируемого исследования, в котором проводилась оценка эффективности этого нового препарата. В исследовании приняли участие 369 больных диссеминированным и местнораспространенным РЖ. Прием маримастата (10 мг) достоверно увеличил время до прогрессирования со 138 дней в группе плацебо до 160 дней в группе маримастата. Двухлетняя выживаемость составила 3 и 9% соответственно [6; 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровень экспрессии MMP-2 и MMP-9 в первичном очаге РЖ влияет на инвазивный потенциал раковых клеток, а также играет важную роль в лимфогенном метастазировании и прогрессировании заболевания.

Увеличение экспрессии MMP-9 в первичной опухоли желудка связано с увеличением глубины опухолевой инвазии ($p < 0,001$), возможным прогрессированием опухолевого процесса ($p = 0,014$) и сокращением ОВ и БРВ больных РЖ ($p = 0,003$ и $p = 0,008$ соответственно).

Повышение экспрессии MMP-2 в меньшей степени влияет на инвазивный потенциал и прогноз новообразований РЖ, но является фактором прогноза лимфогенного метастазирования ($p < 0,001$).

Выявление гиперэкспрессии в первичной опухоли MMP-2 и MMP-9 ассоциируется с неблагоприятным прогнозом, что обуславливает необходимость рассмотрения вопроса об адъювантной терапии у больных РЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Металлопротеиназы как регуляторы неоплазии в злокачественных новообразованиях / Спирина Л. В., Кондакова И. В., Клишко Е. В., Какурина Г. В., Шишкин Д. А. // Сиб. онкол. журн. — 2007. — Т. 21, № 1. — С. 67—71.
2. Curran S., Murray G. I. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their in tumour invasion and metastasis // Eur. J. Cancer. — 2000. — Vol. 36, N 13. — P. 1621—1630.
3. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis / Yoon S. O., Park S. J., Yun C. H., Chang A. S. // J. Biochem. Mol. Biol. — 2003. — Vol. 36. — P. 128—137.
4. Биологическая роль и регуляция матричных металлопротеиназ при раке / Давидсон Б., Райх Р., Рисберг Б., Несланд Я. М. // Арх. патол. — 2002. — Т. 64, № 3. — С. 47—53.
5. Lynch C. C., Matrisian L. M. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication // Differentiation. — 2002. — Vol. 70. — P. 561—573.
6. Novel targets in gastric and esophageal cancer / Valverde C. M., Macarulla T., Casado E., Ramos F. J., Martinelli E., Tabernero J. // Clin. Rev. Oncol. Hematol. — 2006. — Vol. 59. — P. 128—138.
7. Соловьева Н. И. Матричные металлопротеиназы и их биологические функции // Биооргани. химия. — 1998. — № 24. — С. 217—226.
8. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry // Circul. Res. — 2003. — Vol. 92. — P. 827—839.
9. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in colorectal carcinoma invasion and metastasis / Li B. H., Zhao P., Liu S. Z., Yu Y. M., Han M., Wen J. K. // World J. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 28, N 20. — P. 3046—3050.
10. Prognostic value of MMP-2, -9 and TIMP-1, -2 immunoreactive protein at the invasive front in advanced head and neck squamous cell carcinomas / Ondruschka C., Buhtz P., Motsch C., Freigang B., Schneider-Stock R., Roessner A., Boltze C. // Pathol. Res. Pract. — 2002. — Vol. 198, N 8. — P. 509—515.
11. Rundhaug J. E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis // J. Cell Mol. Med. — 2005. — Vol. 9, N 2. — P. 267—285.
12. Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression // Nat. Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2. — P. 161—174.
13. Делекторская В. В. Молекулярно-биологические маркеры метастазирования и прогноза при раке толстой кишки: Дис... д-ра мед. наук. — М., 2007. — 247 с.
14. Прогностическая значимость протеиназ у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи / Клишко Е. В., Кондакова И. В., Чойнзюнов Е. Л., Васильева О. С. // Бюлл. СО РАМН. — 2005. — № 2. — С. 82—91.
15. Turpeenniemi-Hujanen T. Gelatinases (MMP-2 and -9) and their natural inhibitors as prognostic indicators in solid cancers // Biochimie. — 2005. — Vol. 87, N 3—4. — P. 287—297.
16. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in oral squamous cell carcinomas: manifestation and localization of their activity / Kato K., Hara A., Kuno T., Kitaori N., Huilan Z., Mori H., Toida M., Shibata T. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. — 2005. — Vol. 131, N 6. — P. 340—346.
17. Expression of MMP-9 and TIMP-1 as prognostic markers in gastric carcinoma / De Mingo M., Moran A., Sanchez-Pernaute A., Iniesta P., Diez-Valladares L., Peres-Aquirre E., de Juan C., Garcia-Aranda C., Diaz-Lopez A., Garcia-Botella A., Martin-Antona E., Benito M., Torres A., Balibrea J. L. // Hepatogastroenterology. — 2007. — Vol. 54, N 73. — P. 315—319.
18. MMP-2 but not MMP-9 associated with COX-2 and survival in gastric cancer / Mrena J., Wiksten J.-P., Nordling S., Kokkola A., Ristimäki A., Haglund C. // J. Clin. Pathol. — 2006. — Vol. 59, N 6. — P. 618—623.
19. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer / Kubben F. J., Sier C. F., van Duijn W., Griffioen G., Hanemaaijer R., van de Velde C. J., van Krieken J. H., Lamers C. B., Ver-

spaget H. W. // Br. J. Cancer. — 2006. — Vol. 94, N 7. — P. 1035—1040.
20. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial / Bramhall S. R., Hallissey M. T., Whiting J., Scholefield J., Tierney G., Stuart R. C., Hawkins R. E., McCul-

loch P., Maughan T., Brown P. D., Baillet M., Fielding J. W. L. // Br. J. Cancer. — 2002. — Vol. 86. — P. 186—1870.

Поступила 04.10.2010

*Artem Sergeevich Zenyukov¹, Tatiana Federovna Borovskaya²,
Ivan Sokratovich Stilidi³, Maxim Petrovich Nikulin⁴,
Ella Khasanovna Kurpas⁵, Tatiana Vladimirovna Zenyukova⁶,
Sergey Viktorovich Bekov⁷, Stepan Bogdanovich Sagaidak⁸*

EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASES-2 AND -9 IN GASTRIC CANCER: CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES

¹ Postgraduate Student, Surgical Abdominal Oncology Unit, Thoracoabdominal Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

² MD, PhD, Director, Khabarovsk Branch of N. N. Blokhin RCRC RAMS, (164, Voronezhskoe sh., Khabarovsk, 680042, Russian Federation)

³ MD, PhD, Associated Member of RAMS, Professor, Head, Surgical Abdominal Oncology Unit, Thoracoabdominal Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

⁴ MD, PhD, Senior Researcher, Surgical Abdominal Oncology Unit, Thoracoabdominal Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

⁵ MD, PhD, Pathologist, Pathology Department, Regional Clinical Oncology Center (164, Voronezhskoe sh., Khabarovsk, 680042, Russian Federation)

⁶ Postgraduate Student, Pathology Unit, Human Tumor Pathology Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

⁷ MD, PhD, Head, Pathology Department, Regional Clinical Oncology Center (164, Voronezhskoe sh., Khabarovsk, 680042, Russian Federation)

⁸ MD, PhD, Head, 1st Oncology Department, Regional Clinical Oncology Center (164, Voronezhskoe sh., Khabarovsk, 680042, Russian Federation)

Address for Correspondence: Zenyukov Artem Sergeevich, Surgical Abdominal Oncology Unit, Thoracoabdominal Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russian Federation; e-mail: misterzu@rambler.ru

Matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 can degrade type IV collagen of extra cellular matrix and basal membranes. Gastric carcinomas tissues were obtained from 91 patients with gastric cancer who underwent curative resection. Expression of MMP-2 and MMP-9 was assessed by immunohistochemical staining. Hyperexpression of MMP-2 and MMP-9 was demonstrated in 50.5 and 54.9% of gastric carcinomas respectively. MMP-2 and MMP-9 expression correlated with advanced stage ($p = 0.002$, $p = 0.004$), depth of invasion ($p = 0.002$, $p < 0.001$) and lymph node metastasis ($p < 0.001$, $p = 0.088$). Hyperexpression of MMP-9 was associated with poor disease-free survival and overall survival ($p = 0.008$, $p = 0.003$).

Keywords: gastric cancer, matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9.