

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ МАТКИ: РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ

© Должиков А.А., \* Чурносов М.И., \*\* Пахомов С.П., \*\* Орлова В.С., Быков П.М., Мухина Т.С.,  
\*\* Нагорный А.В., \*\* Алтухова О.Б.

Научно-образовательный центр прикладной иммуноморфологии и цитогенетики, Белгород;  
\*кафедра медико-биологических дисциплин,  
\*\*кафедра акушерства и гинекологии  
Белгородского государственного национального исследовательского университета, Белгород  
E-mail: [ihcdaa@mail.ru](mailto:ihcdaa@mail.ru)

Роль матриксных металлопротеиназ (ММП) в настоящее время является областью научных и практических интересов в направлении выработки прогностических критериев при гладкомышечных новообразованиях матки. Высокое прогностическое значение ММП 1-го, 2-го и 9-го типов продемонстрировано при многих опухолях и нуждается в изучении при лейомиомах с пограничным биологическим потенциалом и лейомиосаркомах. Настоящий обзор содержит основную современную информацию по данной проблеме.

**Ключевые слова:** матриксные металлопротеиназы, лейомиома, лейомиосаркома матки, прогностическое значение.

### MOLECULAR-GENETIC FACTORS OF PROGNOSING SMOOTH MUSCLE CELLS NEOPLASMS OF THE UTERUS: THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES

*Dolzhikov A.A., Churnosov M.I., Pakhomov S.P., Orlova V.S., Bykov P.M., Mukhina T.S., Nagorni A.V., Altukhova O.B.*  
Scientific-Educational Centre of Applied Immunomorphology & Cytogenetic, Belgorod;  
Department of Medico-biological Sciences, Department of Obstetrics & Gynecology  
of Belgorod State National Research University, Belgorod

The role of matrix metalloproteinases (MMPs) is currently a subject of scientific and practical attention in the development of prognostic criteria of smooth muscle cells neoplasms of the uterus. The high prognostic value of MMPs of the 1-st, 2-nd and 9-th types has been established in many tumors and it needs researching in leiomyomas of borderline biological potential and leiomyosarcomas. This review contains the major modern information concerning the mentioned problem.

**Keywords:** matrix metalloproteinases, leiomyoma, leiomyosarcoma of the uterus, prognostic value.

Опухолевая прогрессия с приобретением неопластическими элементами метастатического потенциала включает не только изменения пролиферативной активности, контроля апоптотической гибели клеток, межклеточных и клеточно-субстратных взаимодействий, но и существенную трансформацию опухолевого микроокружения. Последнее проявляется опухолевым неангиогенезом, разрушением межтканевых барьеров (базальных мембран эпителиев, стенок кровеносных и лимфатических сосудов), молекулярными изменениями межклеточного матрикса. В модификациях межклеточного матрикса существенную роль играет система цинк-зависимых ферментов – матриксных металлопротеиназ (ММП) и их ингибиторов (ТИМП). ММП обуславливают деградацию компонентов межклеточного матрикса, таких как компоненты базальных мембран (коллаген IV типа, ламинин, энтактин, протеогликаны и гликозаминогликаны), коллагены I, II, III типов, фибронектин, нефибриллярные коллагены, эластин.

Семейство ферментов, характеризующихся как металлопротеиназы, включает более 20 разновид-

ностей. Для их классификации используются как описательные названия, отражающие субстрат для активности, так и условная нумерация. Все ММП имеют сходную доменную структуру с наличием «пре»-региона, необходимого для секреции, стабилизирующего «про»-региона и активного каталитического региона, содержащего цинк-связывающую активную область. Кроме этого содержатся дополнительные домены: гемопексиновый регион и фибронектин-подобный, которые необходимы для распознавания субстрата и ингибиторов. Кроме секретируемых ММП имеется подгруппа мембран-связанных ММП, которые не секретируются. Их функцией считается связывание и активация секретируемых ММП, особенно ММП-2 и ММП-13 (коллагеназы-3). Регуляция активности ММП осуществляется на многих уровнях. Транскрипционная активность генов ММП стимулируется разнообразными онкогенами, факторами роста, цитокинами и гормонами [27]. При этом активация секретируемых ММП требует ферментного протеолиза, который может осуществляться другими ММП, формируя

биохимический каскад. Основными ингибиторами ММП в тканях являются местные тканевые ингибиторы (ТИПМ), эффект которых заключается в блокировании связывания ММП с субстратом. Количество представителей семейства ТИПМ существенно меньше, чем семейства ММП и они отличаются широким спектром ингибирующей активности. При оценке интенсивности экспрессии ММП иммуногистохимическими методами их высокая активность не является во всех случаях свидетельством усиленной деградации межклеточного матрикса, так как параллельно может сопровождаться повышением активности ТИПМ. Поэтому иммунофенотипический анализ активности процессов деградации межклеточного матрикса требует учета обоих факторов.

В целом семейство ММП включает 5 основных групп: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, эластазы и неклассифицированные ферменты. Основные представители, заслужившие в настоящее время особое внимание с научно-практической точки зрения, входят в семейства коллагеназ, желатиназ и стромелизинов. Среди коллагеназ основной является матриксная металлопротеиназа 1 типа (ММП-1) или интерстициальная коллагеназа, обеспечивающая деградацию коллагенов I, II и III типов. В группе желатиназ основными являются ММП-2 (желатиназа А) и ММП-9 (желатиназа В), разрушающие нефибриллярные коллагены IV и V типов. Среди стромелизинов ведущей является ММП-3 (стромелизин-1), субстратом активности для которой являются протеогликаны, ламинин, фибронектин, нефибриллярные коллагены.

Активность ферментов деградации межклеточного матрикса и их ингибиторов играет существенную роль в процессах нормального развития, включающих межклеточные и межтканевые взаимодействия, миграцию тканевых зачатков, инвазивные механизмы роста эмбриональных структур. В процессе инвазии трофобласта в децидуальную оболочку увеличивается активность ММП-9, при этом ингибирование ММП-9 в культуре тканей специфическими антителами тормозит инвазивность трофобласта [11]. Ингибиторы ММП останавливают рост кровеносных сосудов в культуре тканей [28, 36]. Такой же эффект показан для мигрирующих остеокластов в ходе остеогенеза [66]. Высокая активность ММП-9 выявлена в культуре клеток нейробластомы в процессе формирования и роста нейральных отростков [18]. Доказана роль ММП при многих других морфогенетических событиях в эпителиальных, скелетных, миогенных структурах [12, 19, 45].

Поскольку биологический потенциал клеток в ходе нормального морфогенеза и при патологических процессах, основанных на нарушениях ме-

ханизмов регуляции пролиферации и апоптоза, зависит от состояния межклеточного матрикса и клеточно-матриксных взаимодействий, теоретически допустимо предположение о значении ферментов деградации межклеточного матрикса (ММП) и их ингибиторов (ТИПМ) в управлении клеточным делением и апоптотической селекцией. Такая возможность доказана и экспериментально. В частности, химические ингибиторы и антитела против ММП-2 тормозят пролиферативную активность культивируемых гладких миоцитов сосудов, стимулированную тромбоцитарными факторами роста [74]. Такая же зависимость установлена и для гладких миоцитов стенок дыхательных путей [38]. В целом, в нормальном морфогенезе роль ММП и ТИПМ доказана при морфогенезе отдельных тканей [29, 42, 51, 67] с существенными органными особенностями, процессах имплантации, развитии и деградации структур плаценты [8, 80], развитии молочных желез [71, 79], костей [16, 30]. Однако роль ММП, ТИПМ и связанных с ними механизмов неоднозначно проявляется в искусственных культуральных тканевых системах и в условиях *in vivo*. Например, развитие культивируемых структурных элементов почек проявляет зависимость от ММП-9. Однако у нокаутных по гену ММП-9 мышей нарушений морфогенеза почечных структур *in vivo* не выявлено. Это свидетельствует как о наличии компенсаторных механизмов, которые не воспроизводимы в условиях *in vitro*, так и сложных нелинейных взаимодействиях между ММП различных типов и влияющих на них молекул.

Роль ММП в опухолевой прогрессии впервые была постулирована в начале 1980-х годов L.A. Liotta и соавт. [48]. Авторы установили роль протеолиза и идентифицировали коллагеназу IV типа коллагена при инвазии и метастазировании меланомы. В последующем была установлена роль других протеолитических ферментов в инвазивности и метастатическом потенциале опухолевых клеток. При меланоме установлена существенная роль ММП-2 и ММП-9 в развитии фазы вертикального роста и при увеличении степени анаплазии [49]. Повышение активности ММП-2 установлено при прогрессировании рака молочной железы [13, 20]. В процессе метастазирования плоскоклеточного рака легких и шейки матки, железистом раке легких и молочной железы, переходноклеточном раке мочевого пузыря, светлоклеточном раке почки установлена важная роль ММП 2-го (ММП-2) и 9-го (ММП-9) типов с высокой степенью корреляции с наличием отдаленных метастазов [1]. Для ММП-1 такая зависимость найдена только при железистых карциномах легких и молочной железы. В то же время

экспрессия тканевого ингибитора 1-го типа (ТИПМ) обнаруживает высокую степень отрицательной обратной связи с наличием метастазов при светлоклеточном раке почки. Имеются свидетельства того, что уровни ММП и ТИПМ могут служить в качестве дополнительных маркеров биологического потенциала опухолей и их прогноза. При раке простаты повышается уровень сывороточной ММП-2, что не характерно для доброкачественных гиперплазий простаты [32]. Обнаружена даже прямая корреляция уровня ММП-2 с градацией рака простаты по Глисон и с метастазированием в лимфатические узлы [69]. Аналогичным образом активность плазменной ТИПМ-1 ассоциирована с раком простаты, но не с доброкачественными изменениями железы [40]. При колоректальном раке показано плохое прогностическое значение повышенной иммуноэкспрессии ММП-1 [53]. Основные факты, полученные при изучении ряда других опухолей, следующие. При раке молочной железы установлено повышение активности ММП-1 [63], матричной РНК (mRNA) ММП-2 в строме [21], а экспрессии самого протеина в опухолевом эпителии [46, 61, 63, 64]. В колоректальных карциномах выявлено повышение активности ММП-1 в строме, а ММП-2 также в эпителии [34, 52, 62]. При раке легких в клетках стромы установлено повышение экспрессии mRNA ММП-2 и самого фермента в фибробластах и эндотелии [15, 43, 54, 55, 68], в эпителии повышена экспрессия ММП-9 [17, 54, 72]. Карциномы поджелудочной железы также характеризуются повышением активности ММП-1 и ММП-2 в опухолевом эпителии [33, 44]. Повышение активности ММП-1 и ММП-2 выявлено в строме и опухолевых клетках рака яичников. Не случайно механизмы регуляции активности ММП являются в настоящее время одним из направлений в разработке средств противоопухолевой терапии.

Лейомиомы матки, являющиеся истинными доброкачественными опухолями, помимо высокой актуальности для практической гинекологии, представляют удобную модель для изучения роли отдельных событий в опухолевом росте – пролиферации, апоптоза клеток, модификациях и накоплении межклеточного матрикса. При этом крайне актуальной и нерешенной остается проблема дифференциальной диагностики пролиферативно активных лейомиом и высокодифференцированных лейомиосарком. Предложенные критерии, включающие в себя оценку наличия и распространенности коагуляционных некрозов, наличия инфильтративного роста, атипии и пролиферативной активности не всегда четко воспроизводимы, особенно при больших размерах опухолевых узлов, обуславливающих вероят-

ность отсутствия диагностически информативных участков в материале патогистологического исследования. При этом гормональная зависимость основных механизмов роста лейомиом не всегда очевидна. В частности, больший эффект повышения экспрессии антиапоптотического белка bcl-2 в лейомиомах выявлен для прогестерона в сравнении с эстрогенами. Содержание этого белка существенно выше в лейомиомах в сопоставлении с окружающим миометрием, в котором его количество близко к неопределяемому иммуногистохимическими методами. Экспрессия bcl-2 в лейомиомах существенно выше в пролиферативную фазу менструального цикла, в неопуховом миометрии отличий в секреторную и пролиферативную фазы не выявлено.

В отечественной литературе имеются единичные исследования, посвященные изучению генетических и молекулярных механизмов в росте лейомиом. Установлено, что митотически активные лейомиомы отличаются более высоким содержанием эпидермального фактора роста и его рецепторов, инсулин-подобного фактора роста I типа, тромбоцитарного фактора роста, трансформирующего фактора роста  $\beta$  [3, 6]. В исследованиях Е.А. Коган и соавт. [3, 6] выявлен целый ряд значимых взаимосвязей клинкоморфологических и молекулярно-биологических особенностей лейомиом. Как было ранее показано другими авторами, выявлен больший уровень экспрессии bcl-2 в сравнении с неопуховым миометрием. Уровень экспрессии белка в лейомиомах без другой патологии матки оказался ниже, чем при сочетании лейомиом с аденомиозом и гиперплазией эндометрия. При одиночных узлах экспрессия bcl-2 была также ниже, чем при множественных. Установлено, что в простых лейомиомах выше пролиферативная активность стромальных клеток, лейомиоциты же подвергаются преимущественно гипертрофическим изменениям. В клеточных лейомиомах пролиферация выше, чем в простых, при этом снижена активность апоптоза и рост таких лейомиом происходит за счет увеличения продолжительности жизни лейомиоцитов и их накопления. В митотически активных лейомиомах активность апоптоза также снижена, но выше митотическая активность лейомиоцитов, поэтому существеннее вклад клеточной пролиферации в рост опухоли. Также имеет значение и состояние стромы, которая в клеточных и митотически активных лейомиомах выглядит менее зрелой, с признаками ангиогенеза в отличие от простых лейомиом. Имеющиеся в настоящее время данные о молекулярных механизмах роста лейомиом не лишены противоречий. Имеются данные как о повышении экспрессии трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) в мито-

тически активных лейомиомах, так и его ингибирующем влиянии на митотическую активность, но усиливается продукция фибронектина и коллагена при ингибировании его ферментной деградации. О.В. Зайратьянц и соавт. [2] на основании изучения ряда молекулярно-биологических факторов в лейомиомах выделили 2 основные группы данных опухолей: со слабо выраженной пролиферативной активностью и выраженной пролиферативной активностью опухолевых миоцитов. В неопухолевом миометрии обнаружен больший уровень экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), меньший уровень экспрессии TGF  $\beta$ 1 с более выраженным накоплением внеклеточного матрикса по направлению к субсерозному слою миометрия. В лейомиомах со слабой пролиферативной активностью клетки с экспрессией маркера клеточного деления – Ki67 выявлялись в периваскулярных зонах и составляли не более 1%, что, однако, в 10 раз выше в сравнении с окружающим миометрием. Уровень экспрессии VEGF низкий, TGF  $\beta$ 1 в лейомиомах со слабой пролиферативной активностью напротив высокий и сочетается с повышением уровня фибронектина. Таким образом, в данном типе лейомиом преобладают процессы синтеза внеклеточного матрикса. В лейомиомах с выраженной пролиферативной активностью индекс Ki67 составлял в среднем 5%, достигая в клеточных лейомиомах 10%. При этом пролиферативная активность не ограничивалась только периваскулярными зонами, наблюдалась и вне их, а также во многих эндотелиоцитах. Экспрессия VEGF и признаки продукции внеклеточного матрикса имели противоположный характер в сравнении с лейомиомами с низкой пролиферативной активностью.

Изучению межклеточного матрикса, формирование и ремоделирование которого составляет существенный компонент роста лейомиом, посвящены немногочисленные работы. Показано, что экспрессия матричной РНК (мРНК) фибронектина мало отличается в лейомиомах и окружающем миометрии. Однако соотношение коллагенов I и III типов, а также уровень их выработки достоверно выше в лейомиомах в сопоставлении с миометрием в пролиферативную фазу менструального цикла. Аналоги гонадотропин-релизинг гормона индуцируют регресс лейомиом, сопровождающийся существенным ремоделированием тканевой структуры за счет изменений состояния и обмена компонентов внеклеточного матрикса. Dou Q. и соавт. [25] при изучении экспрессии мРНК ММП и ТИМП, а также продуктов экспрессии генов – самих ферментов, установлены следующие особенности. В миометрии наблюдается значимо больший уровень экспрессии мРНК ТИМП, чем ММП, особенно в период от ранней

до средней стадии фазы секреции. В лейомиомах в течение пролиферативной фазы наблюдается крайне низкий уровень экспрессии ММП вплоть до ее отсутствия. В фазе секреции уровень экспрессии мРНК ММП и ТИМП в лейомиомах становится идентичным таковому в миометрии в фазу пролиферации. При иммуногистохимическом исследовании установлено, что как в лейомиомах, так и в миометрии имеется экспрессия ММП-1, ММП-2, ТИМП-1 и ТИМП-2, которая существенно не отличается в зависимости от фазы секреторного цикла. Активность ММП-3 и ММП-9 при этом крайне низкие. В результате лечения аналогами гонадотропин-релизинг гормона происходит достоверное повышение активности ММП различных типов и резкое снижение активности ТИМП, особенно ТИМП-1. Таким образом, авторами установлено, что зависимыми от фаз менструального цикла являются уровни мРНК ММП и ТИМП, но не конечных продуктов экспрессии генов – самих ферментов. В лейомиомах активность системы деградации внеклеточного матрикса, связанная с ММП, низкая. Кроме этого рядом авторов установлен больший уровень экспрессии мРНК коллагенов I и III типов в лейомиомах в сопоставлении с миометрием.

Интересные данные о молекулярно-генетических факторах риска развития миомы матки получены в работах Кулагиной Н.В. и соавт. [5]. Авторами изучена распространенность генетических вариантов ММП-1 (1G/2G), ММП-3 (5A/6A), ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) (4G/5G) и метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) (C677T) у 170 больных миомой матки с целью выявления взаимосвязи между полиморфизмом перечисленных генов и различными клиническими вариантами течения заболевания. В результате проведенного исследования выявлено, что носительство гомозиготного генотипа ММП-1 (1G/1G-1607) является прогностическим маркером благоприятного клинического течения миомы матки. Носительство аллеля 2G в гетерозиготной (1G/2G-1607) или гомозиготной (2G/2G-1607) формах способствует быстрому росту, развитию многоузловых форм миом матки. В работе установлено, что у носителей аллеля 5G гена PAI-1 (4G/5G-675 и 5G/5G-675), а также аллелей 2G гена ММП-1 и 5G гена PAI-1 имеет место значительно повышенная частота быстрорастущих форм миомы матки. Прогностическим критерием быстрого роста миомы матки является наличие аллеля 2G гена ММП-1 в гетеро- или гомозиготном варианте и наличие ассоциации аллелей 2G ММП-1 и 5G PAI-1. Частоты полиморфизмов ММП-3 (5A/6A-600) и MTHFR (C677T) не различаются в группах больных с различными клиническими вариантами течения миомы матки.

Лейомиосаркома тела матки составляет только 1% всех злокачественных новообразований данного органа, но она является наиболее частой неэпителиальной опухолью матки и отличается плохим прогнозом. Общая 5-летняя выживаемость находится в интервале только 15-25%. В классификации ВОЗ содержатся критерии дифференциальной диагностики лейомиосарком и сходных с ними вариантов лейомиом. Однако на практике имеются объективные сложности интерпретации вследствие неполноты необходимых морфологических признаков и их пограничностью при атипичных и митотически активных лейомиомах. Сложной является прогнозирование течения заболевания из-за небольшого числа наблюдений в отдельных популяциях и недостаточностью систематического накопления результатов диагностики и лечения.

Имеющиеся в литературе исследования показали, что возраст старше 50 лет, размер опухолей более 5 см, высокая митотическая активность (более 10 митозов на 10 полей зрения  $\times 400$ ) и распространенность опухолевого процесса являются в целом неблагоприятными факторами прогноза. Имеются данные о менее благоприятном течении заболевания при миксоидном или эпителиоидном гистологических вариантах лейомиосаркомы матки [9, 39, 41, 47, 58, 60]. Однако эти результаты имеют лишь ориентировочный характер. Стадия заболевания представляется наиболее объективным критерием прогноза. Однако многие пациенты со стадией I фактически имеют плохой прогноз. В связи с этим поиск объективных морфологических критериев прогноза лейомиосарком является крайне актуальным.

В серии 123 случаев лейомиосарком матки Wang W-L. и соавт. [77] проанализировали результаты в 27 случаях, в которых была I стадия заболевания и имелось полноценное наблюдение на протяжении 2-х лет. Диаметр опухолей варьировал от 5,5 до 16 см (в среднем 9,5 см), гистологически среди них преобладали веретенчатые (17), в 5 случаях опухоли имели эпителиоидную морфологию, в 2-х – миксоидную, остальные имели смешанное строение. Диффузная клеточная атипия имелась в 17 случаях из 27, митотическая активность варьировала от 4 до 69 (в среднем 24) митозов на 10 полей зрения. Некрозы опухолевых клеток имелись в 12 случаях из 27, в 6 выявлена локальная инвазия в сосуды. В динамике наблюдения у 9 пациентов развились рецидивы, 7 умерли от прогрессирования заболевания. При статистическом анализе наличие некрозов опухолевых клеток, локальная внутрисосудистая инвазия и высокая митотическая активность статистически недостоверно преобладали в случаях с неблагоприятным прогнозом и исходом.

Наиболее значимыми неблагоприятными прогностическими факторами оказались неверетенчатая морфология опухолей и диффузная клеточная атипия высокой степени. Возраст и размер опухолей не показали прогностического значения. В целом, по данным большинства исследований, неблагоприятными прогностическими факторами являются стадия заболевания, неверетенчатая (эпителиоидная, миксоидная) структура опухолей. Относительно прогностического вклада клеточной атипии и митотической активности данные противоречивы. Рядом авторов установлено, что выраженная атипия является плохим прогностическим фактором [13, 31, 78], но при I и II стадиях заболевания эта зависимость подтверждена не во всех исследованиях [10, 23, 26, 50, 59]. Необходимо также учитывать, что атипичные лейомиомы с уродливыми ядрами (причудливые лейомиомы) могут иметь резко выраженную клеточную атипию, не будучи злокачественными опухолями. Данные о прогностической роли митотической активности также неоднозначны. В качестве условно принятого и относительно обоснованного критерия используется уровень митотической активности – 10 митозов на 10 полей зрения. В большой серии из 235 случаев лейомиосарком матки показано, что при митотической активности до 5 на 10 полей зрения 5-летняя выживаемость составляет 73%, при 6, 10, от 11 до 15, от 16 до 20 и более 20 митозов на 10 полей зрения 5-летняя выживаемость составляет 60%, 48%, 48% и 23% соответственно [6]. При этом имеет значение разделение на группы в зависимости от митотической активности и размера опухоли: низкий риск злокачественности при размере менее 10 см и менее 10 митозов на 10 полей зрения, средний риск при размере более 10 см или более 10 митозов, высокий риск при размере более 10 см и митотической активности более 10 митозов на 10 полей зрения. В других исследованиях, как уже отмечено, статистического подтверждения прогностического значения при I стадии заболевания не получено. Отчасти противоречия в результатах и их интерпретации могут быть связаны с отличиями в технологии исследования и оценки тканевых образцов, критерии оценки митотической активности. В связи с этим более объективными могут быть молекулярные маркеры пролиферативной активности – белок Ki67 и новый митоз-специфический маркер фосфо-гистон H3. Некроз опухолевых клеток является важным, но неоднозначно оцениваемым прогностическим фактором. С одной стороны, показано его независимое прогностическое значение с 8 кратным увеличением риска плохого прогноза [37]. С другой стороны, в значительном количестве исследований не найдено прогностического

значения некроза опухолевых клеток, при этом во многих случаях не проведена дифференциальная диагностика между спонтанными некрозами опухолевых клеток и инфарктами в опухолевых узлах, что на практике сделать бывает крайне сложно [7, 10, 25, 75]. При I стадии лейомиосарком прогностическое значение некрозов не доказано. Даже такой фактор как внутрисосудистая инвазия является неоднозначным. Имеются сопоставимые исследования, доказывающие высокое прогностическое значение внутрисосудистой инвазии [14, 22, 23, 24, 26, 37, 50, 56, 57]. Отчасти это может быть связано с отличиями в подготовке, обработке образцов материала и последующей интерпретации морфологических картин.

При иммуногистохимических исследованиях с анализом многих молекулярных маркеров не получено однозначных результатов, которые могли бы дать четкие критерии прогностической оценки лейомиосарком. В большей степени это связано с недостаточной глубиной исследований в данном направлении и отсутствием больших сопоставимых выборок материала. Очевидно, что при неоднозначности рутинных морфологических признаков прогноза злокачественных новообразований необходим поиск дополнительных молекулярно-биологических и генетических маркеров.

Изучению роли матриксных металлопротеиназ при мягкотканых саркомах посвящены немногочисленные исследования. Roebuck M.M. и соавт. [65] при изучении 39 случаев доброкачественных мягкотканых опухолей, фиброматозов и сарком установлен ряд закономерностей, свидетельствующих о роли ММП и ТИМП, а также модификации межклеточного матрикса в опухолевой прогрессии и опухолевом ангиогенезе. В наибольшей степени в изученных опухолях экспрессировалась ММП-1. Активность ТИМП-2 в фиброматозах оказалась выше, чем в мягкотканых саркомах. Существенным фактом является обнаружение экспрессии ММП-2 в эндотелии опухолевых сосудов. При этом в зависимости от плотности сосудов, пролиферативной активности и экспрессии ММП-2 авторы установили следующее. В саркомах сочетаются высокая клеточная плотность, высокая пролиферативная активность, большое количество сосудов, определяемых по экспрессии CD31/CD34, при этом в эндотелии выявляется активность ММП-2. В фиброматозах клеточная плотность, пролиферативная активность и насыщенность сосудами низкие, но эндотелий сосудов экспрессирует ММП-2. В доброкачественных опухолях при высокой плотности клеточного состава пролиферативная активность низкая, сосуды могут быть многочисленными, но экспрессия ММП-2 низкая. На основании выявленных корреляций сделан вывод о том, что

ММП-2 позитивные сосуды являются активно растущими, обеспечивающими инвазивный рост при фиброматозах и саркомах. Основным, по мнению авторов, является не прямое повышение активности ММП различных типов, а их модификационные изменения и появление матриксдеградирующей активности эндотелиоцитов новообразующихся сосудов.

Исследования различных мягкотканых сарком показали связь изменений гена p53 и экспрессии ММП-9 и их влияние на биологический потенциал опухолей. Изучено 68 случаев злокачественных фиброзных гистиоцитом, лейомиосарком, фибросарком и синовиальных сарком. Анализ мутаций гена p53 проведен в 13 опухолях. Среди них в 7 выявлены мутации гена p53, все они были метастазирующими и характеризовались высоким уровнем экспрессии ММП-9. Среди 6 опухолей без мутации p53 только 2 были метастазирующими и только 3 из них экспрессировали ММП-9 на низком или среднем уровне. В последующем в культуре клеток лейомиосаркомы подтверждено влияние гена p53 на экспрессию mRNA ММП-9 и конечный продукт. Восстановление активности дикого типа гена p53 приводит к транскрипционному ингибированию гена ММП-9. Сходные данные получены и в других злокачественных опухолях. Показано активирующее действие мутантного p53 на экспрессию ММП-1 и ММП-13 в синовиальных саркомах, ингибирование ее диким типом p53 [70], ингибирующее влияние дикого p53 на экспрессию ММП-2 в меланомах [73]. Данные факты дают одно из направлений для разработки таргетной терапии мягкотканых сарком.

Bonder K. и соавт. [13] изучили 21 случай лейомиосарком матки. В 86% наблюдений выявлена значимая экспрессия ММП-1, в 46% ММП-2. Обнаружена положительная корреляционная связь между уровнем экспрессии ММП-2 и наличием внутрисосудистой инвазии, а также частотой экспрессии и возрастом. У пациенток старше 50 лет статистически достоверно чаще наблюдалась значимая активность ММП-2. Зависимости экспрессии ММП-2 от стадии опухоли и рецидивирования статистически не установлено, однако в группе с ММП-2 негативным статусом выявлен тренд более длительной безрецидивной выживаемости.

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует о большом научно-практическом значении изучения молекулярно-биологических характеристик опухолевого микроокружения, межклеточного матрикса новообразований, поиска генетических предикторов биологического потенциала опухолевых клеток, которые могут иметь значение для определения не только про-

гноза заболевания, но и потенциальной чувствительности к лечению.

Работа поддержана Грантом в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы»; госконтракт № 02.740.11.0712 от 05.04.2010.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Завалишина Л.Э. Молекулярно-биологические факторы инвазивного роста и метастазирования рака при морфологическом исследовании. – Автореф. ...докт. биол. наук (14.00.01– онкология). – М., 2006. – 46 с.
2. Зайратьянц О.В., Сидорова И.С., Леваков С.А., Левин Е.М., Опаленов К.В. Особенности морфогенеза и ангиогенеза лейомиом матки // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 3. – С. 29–31.
3. Коган Е.А., Игнатова В.Е., Рухадзе Т.Н., Кудрина Е.А., Ищенко А.И. Роль ростовых факторов в развитии разных гистологических типов лейомиомы матки // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 3. – С. 34–38.
4. Коган Е.А., Игнатова В.Е., Унанян А.Л., Сидорова И.С. Соотношение процессов пролиферации и апоптоза в разных гистологических типах лейомиомы матки // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 4. – С. 32–36.
5. Кулагина Н.В. Роль генного полиморфизма генов MMP-1 и PAI-1 в прогнозе развития гиперпластических процессов в миометрии // Материалы VII Российского форума «Мать и Дитя». – М., 2005. – С. 422–423.
6. Abeler V.M., Roynne O., Thoresen S. et al. Uterine sarcomas in Norway: a histopathological and prognostic survey of a total population from 1970 to 2000 including 419 patients // Histopathology. – 2009. – Vol. 54. – P. 355–364.
7. Akhan S.E., Yavuz E., Tecer A. et al. The expression of Ki-67, p53, estrogen and progesterone receptors affecting survival in uterine leiomyosarcomas: a clinicopathologic study // Gynecol Oncol. – 2005. – Vol. 99. – P. 36–42.
8. Alexander C.M., Howard E.W., Bissell M.J., Werb Z. Rescue of mammary epithelial cell apoptosis and ectactin degradation by a tissue inhibitor of metalloproteinases-1 transgene // J. Cell Biol. – Vol. – 135. – P. 1669–1677.
9. Atkins K., Bell S.W., Kempson R.L. Muxoid smooth muscle tumors of the uterus // Mod Pathol. – 2001. – Vol. 14. – P. 132A.
10. Barter J.F., Smith E.B., Szpak C.A. et al. Leiomyosarcoma of the uterus: clinicopathologic study of 21 cases // Gynecol Oncol. – 1985. – Vol. 21. – P. 220–227.
11. Behrendtsen O., Werb Z. Metalloproteinases regulate parietal endoderm differentiating and migrating in culture mouse embryos // Develop. Dyn. – 1997. – Vol. 208. – P. 255–265.
12. Blavier L., Delaisse J.M. Matrix metalloproteinases are obligatory for the migration of preosteoclasts to the developing marrow cavity of primitive long bones // J. Cell Sci. – 1995. – Vol. 108. – P. 3649–3659.
13. Bodner K., Kimberger O., Czewenka K. et al. MMP-1 and MMP-2 expression in uterine leiomyosarcoma and correlation with different clinicopathologic parameters // J of the Society for Gynecol. Invest. – 2003. – N10. – P. 443–446.
14. Bodner K., Bodner-Adler B., Kimberger O. et al. Evaluating prognostic parameters in women with uterine leiomyosarcoma: a clinicopathologic study // J Reprod Med. – 2003. – Vol. 48. – P. 95–100.
15. Brown P.D., Bloxidge R.E., Stuart N.S.A. et al. Association between expression of activated 72-kilodalton gelatinase and tumor spread in non-small-cell lung carcinoma // J Natl Cancer Inst. – 1993. – Vol. 85. – P. 574–578.
16. Caplan A.I. Bone development. Ciba Found. Symp. 1998. – Vol. 136. – P. 3–21.
17. Canete-Soler R., Litzky L., Lubensky I. et al. Localization of the 92 kd gelatinase mRNA in squamous cell and adenocarcinomas of the lung using in situ hybridization // Am J Pathol. – 1994. – Vol. 144. – P. 518–527.
18. Chambaut-Guerin A.M., Herigault S., Rouert-Benzineb P., Rouher C., Lafuma C. Induction of matrix metalloproteinase MMP-9 (92-kDa gelatinase) by retinoic acid in human neuroblastoma SKNB cells: Relevance to neuronal differentiation // J. Neurochem. – 2000. – Vol. 74. – P. 508–517.
19. Chin J.R., Werb Z. Matrix metalloproteinase regulate morphogenesis, migration and remodeling of epithelium, tongue skeletal muscle and cartilage in the mandibular arch // Development. – 1997. – Vol. 124. – P. 1519–1530.
20. Davies B., Brown P.D., East N. et al. A synthetic matrix metalloproteinase inhibitor decreases tumor burden and prolongs survival of mice bearing human ovarian carcinoma xenografts // Cancer Res. – 1993. – Vol. 53. – P. 2087–2091.
21. Davies B., Miles D.W., Happerfield L.C. et al. Activity of type IV collagenases in benign and malignant breast disease // Br J Cancer. – 1993. – Vol. 67. – P. 1126–1131.
22. D'Angelo E., Spagnoli L.G., Prat J. Comparative clinicopathologic and immunohistochemical analysis of uterine sarcomas diagnosed using the World Health Organization classification system // Hum Pathol. – 2009. – Vol. 40. – P. 1571–1585.
23. Denschlag D., Masoud I., Stanimir G. et al. Prognostic factors and outcome in women with uterine sarcoma // Eur J Surg Oncol. – 2007. – Vol. 33. – P. 91–95.
24. Dinh T.A., Oliva E.A., Fuller A.F. Jr. et al. The treatment of uterine leiomyosarcoma: results from a 10-year experience (1990–1999) at the Massachusetts General Hospital // Gynecol Oncol. – 2004. – Vol. 92. – P. 648–652.
25. Dou Qingchuan, R.W., Tarnuzzer, R.S. Williams, G.S. et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in leiomyomata: a mechanism for gonadotropin releasing hormone agonist-induced tumor regression // Molecular Human

- Reproduction. – 1997. – Vol. 3. – N11. – P. 1005–1014.
26. *Evans H.L., Chawla S.P., Simpson C. et al.* Smooth muscle neoplasms of the uterus other than ordinary leiomyoma: a study of 46 cases, with emphasis on diagnostic criteria and prognostic factors // *Cancer.* – 1988. – Vol. 62. – P. 2239–2247.
  27. *Fini M.E., Cook, J.R., Mohan R. et al.* Regulation of MMP gene expression, in Parks WC, Mecham RP (eds): *Matrix Metalloproteinases.* // San Diego, CA, Academic Press. – 1998. – P. 299 – 356.
  28. *Fisher C., Gilbertson-Beadling S., Powers E.A., Petzold G., Poorman R., Mitchell, M.A.* Interstitial collagenase is required for angiogenesis in vitro // *Develop. Biol.* – 1994. – Vol. 162. – P. 499 – 510.
  29. *Fukuda Y., Masuda Y., Kishi J., Hashimoto Y., Hayakawa T., Nogawa H., Nakanishi, Y.* The role of interstitial collagens in cleft formation of mouse embryonic submandibular gland during initial braching // *Development.* – 1988. – Vol. 103. – P. 259 – 267.
  30. *Gerber H.P., Vu T.H., Ryan A.M, Kowalski J., Werb Z., Ferrara N.* VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation // *Nat. Med.* – 1999. – N 5. – P. 623 – 628.
  31. *Giuntoli R.L., Metzinger D.S., DiMarco C.S. et al.* Retrospective review of 208 patients with leiomyosarcoma of the uterus: prognostic indicators, surgical management, and adjuvant therapy // *Gynecol Oncol.* – 2003. – Vol. 89. – P. 460–469.
  32. *Gohji K., Fujimoto N., Hara I. et al.* Serum matrix metalloproteinase-2 and its density in men with prostate cancer as new predictor of disease extension // *Int J Cancer.* – 1998. – Vol. 79. – P. 96 – 101.
  33. *Gress T.M., Mueller-Pillasch F., Lerch M.M. et al.* Expression and in-situ localization of genes coding for extracellular matrix proteins and extracellular matrix degrading proteases in pancreatic cancer // *Int J Cancer.* – 1995. – Vol. 62. P. 407 – 443.
  34. *Grigioni W.F., D'Errico A., Fiorentio M et al.* Gelatinase A (MMP-2) and its mRNA detected in both neoplastic and stromal cells of tumors with different invasive and metastatic properties // *Diagn Mol Pathol.* – 1994. – N3. – P. 163 – 169.
  35. *Hannigan E.V., Gomez L.G.* Uterine leiomyosarcoma // *Am J Obstet Gynecol.* – 1979. – Vol. 134. – P. 557–564.
  36. *Hiraoka N., Allen E., Apel L. J., Gyetko M. R., Weiss S.J.* Matrix metalloproteinases regulate neovascularization by acting as pericellular fibrinolysins // *Cell.* – 1998. – Vol. 95. – P. 365 – 377.
  37. *Hsieh C.H., Lin H., Huang C.C. et al.* Leiomyosarcoma of the uterus: a clinicopathologic study of 21 cases // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2003. – Vol. 82. – P. 74–81.
  38. *Johnson S. Knox A.* Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. L1109 – L1117.
  39. *Jones M.W., Norris H.J.* Clinicopathologic study of 28 uterine leiomyosarcomas with metastasis // *Int J Gynecol Pathol.* – 1995. – Vol. 14. – P. 243–249.
  40. *Jung K., Nowak L., Lein M et al.* Matrix metalloproteinases 1 and 3, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and the complex of metalloproteinase-1 tissue inhibitor in plasma of patients with prostate cancer // *Int J Cancer.* – 1997. – Vol. 74. – P. 220 – 223.
  41. *Kabbani W., Deavers M.T., Malpica A. et al.* Uterine tumor resembling ovarian sex-cord tumor: report of a case mimicking cervical adenocarcinoma // *Int J Gynecol Pathol.* – 2003. – Vol. 22. – P. 297–302.
  42. *Kanwar Y.S., Ota K., Yang Q. et al.* Role of membrane-type matrix metalloproteinase 1 (MT-1-MMP), MMP-2, and its inhibitor in nephrogenesis // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. F934 – F947.
  43. *Kodate M., Kasai T., Hashimoto H. et al.* Expression of matrix metalloproteinase (gelatinase) in T1 adenocarcinoma of the lung // *Pathol Int.* – 1997. – Vol. 47. – P. 461 – 469.
  44. *Koshiba T., Hisotani R., Wada M. et al.* Detection of matrix metalloproteinase activity in human pancreatic cancer // *Surg Today.* – 1997. – Vol. 27. – P. 302 – 304.
  45. *Koshikawa N., Giannelli G., Cirulli V. et al.* Role of cell migration over laminin-5 // *J. Cell Biol.* – 2000. – Vol. 148. – P. 615 – 624.
  46. *Kurizaki T., Toi M., Tominaga T.* Relationship between matrix metalloproteinase expression and tumor angiogenesis in human breast carcinoma // *Oncol Reports.* – 1998. – N5. – P. 673 – 677.
  47. *Kurman R.J, Norris H.J.* Mesenchymal tumors of the uterus. VI. Epithelioid smooth muscle tumors including leiomyoblastoma and clear-cell leiomyoma: a clinical and pathologic analysis of 26 cases // *Cancer.* – 1976. – Vol. 37. – P.1853–1865.
  48. *Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S. et al.* Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen // *Nature.* – 1980. – Vol. 284. – P. 67 – 68.
  49. *MacDougall J.R., Bani M.R., Lin Y. et al.* The 92-kDa gelatinase B is expressed by advanced stage melanoma cells: Suppression by somatic cell hybridization with early stage melanoma cell // *Cancer Res.* – Vol. 55. – P. 4174 – 4181.
  50. *Major F.J., Blessing J.A., Silverberg S.G. et al.* Prognostic factors in early-stage uterine sarcoma: a Gynecologic Oncology Group study // *Cancer.* – 1993. – Vol.71. – P. 1702–1709.
  51. *Miralles F., Battelino T., Czernichow P., Scharfmann R.* TGF-beta plays a key role in morphogenesis of the pancreatic islets of Langerhans by controlling the activity of the matrix metalloproteinase MMP-2 // *J. Cell. Biol.* – 1998. – Vol. 143. – P. 827 – 836.
  52. *Murray G.I., Duncan M.E., O'Neil P. et al.* Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in oesophageal cancer // *J Pathol.* – 1998. – Vol. 185. – P. 256 – 261.
  53. *Murray G.I., Duncan M.E., O'Neil P. et al.* Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer // *Nat Med.* – 1996. – N2. – P. 461 – 462.
  54. *Nakagawa H., Yagihashi S.* Expression of type IV collagen and its degrading enzymes in squamous cell carcinoma of lung // *Jap J Cancer Res.* – 1994. – Vol. 85. – P. 934 – 938.



55. Nawrocki B., Polette M., Marchand V. et al. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human bronchopulmonary carcinomas: Quantitative and morphological analyses // *Int J Cancer*. – 1997. – Vol. 72. – P. 556 – 564.
56. Nordal R.N., Kjorstad K.E., Stenwig A.E., et al. Leiomyosarcoma (LMS) and endometrial stromal sarcoma (ESS) of the uterus: a survey of patients treated in the Norwegian Radium Hospital 1976–1985// *Int J Gynecol Cancer*. – 1993. – N 3. – P.110–115.
57. Nordal R.R., Kristensen G.B., Kaern J., et al. The prognostic significance of stage, tumor size, cellular atypia and DNA ploidy in uterine leiomyosarcoma // *Acta Oncol*. – 1995. – Vol. 34. – P. 797–802.
58. Oliva E., Nielsen G.P., Clement P.B., et al. Epithelioid smooth muscle tumors of the uterus: a clinicopathologic analysis of 80 cases // *Mod Pathol*. – 1997. – N10. – P. 107A.
59. Pautier P., Genestie C., Rey A. et al. Analysis of clinicopathologic prognostic factors for 157 uterine sarcomas and evaluation of a grading score validated for soft tissue sarcoma // *Cancer*. – 2000. – Vol. 88. – P. 1425–1431.
60. Peacock G., Archer S. Myxoid leiomyosarcoma of the uterus: case report and review of the literature // *Am J Obstet Gynecol*. – 1989. – Vol. 160. – P. 1515–1518; discussion 1518–1519.
61. Polette M., Gilbaert N., Stas I. et al. Gelatinase A expression and localization in human breast cancers: An in situ hybridization study and immunohistochemical detection using confocal microscopy // *Virchows Arch Int Pathol*. – 1994. – Vol. 424. – P. 641 – 645.
62. Pyke C., Ralfkiaer E., Tryggvason K. et al. Messenger RNA for two type IV collagenases is located in stromal cells in human colon cancer // *Am J Pathol*. – 1993. – Vol. 142. – P. 359 – 365.
63. Remacle A.G., Noel A., Duggan C. et al. Assay of matrix metalloproteinases types 1,2,3 and 9 in breast cancer // *Brit J Cancer*. – 1998. – Vol. 77. – P. 926 – 931.
64. Rha S.Y., Yang W.I., Kim J.H. et al. Different expression patterns of MMP–2 and MMP–9 in breast cancer // *Oncol Rep*. – 1998. – N 5. – P. 875 – 879.
65. Roebuck M.M., Hellivell T.R., Chaudhry I.H. et al. Matrix metalloproteinase expression is related to angiogenesis and histologic grade in spindle cell soft tissue neoplasms of the extremities // *Am. J Clin. Pathol*. – 2005. – Vol. 123. – P. 405 – 414.
66. Sato T., Foged N.T., Delaisse J.M. The migration of purified osteoclasts through collagen is inhibited by matrix metalloproteinase inhibitors // *J. Bone Mineral Res*. – 1998. – Vol. 13. – P. 59 – 66.
67. Schedin P., Strange R., Mitrenga T., Wolfe P., Kaeck M. Fibronectin fragments induce MMP activity in mouse mammary epithelial cells: Evidence for a role in mammary tissue remodeling // *J. Cell Sci*. – 2000. – Vol. 113. – P. 795 – 806.
68. Soini Y., Pääkkö P., Autio-Harmainen H. Genes of laminin B1 chain, alpha–1 (IV) chain of type IV collagen, and 72–kd type IV collagenase are mainly expressed by the stromal cells of lung carcinomas // *Am J Pathol*. – 1993. – Vol. 142. – P. 1622 – 1630.
69. Stearns M.E., Stearns M. Immunohistochemical studies of activated matrix metalloproteinase–2 (MMP–2a) expression in human prostate cancer // *Oncol Res*. – 1996. – N 8. – P. 63 – 67.
70. Sun Y., Wenger L., Rutter J.L., Brinckerhoff C.E., Cheung H.S. p53 downregulates human matrix metalloproteinase–1 (collagenase–1) gene expression// *J Biol. Chem*. – 1999. – N 274. – P. 11535–11540.
71. Simpson C.J., Talhouk R.S., Alexander C.M. et al. Targeted expression of stromelysin–1 in mammary gland provides evidence for a role of proteinases in branching morphogenesis and the requirement for an intact basement membrane for tissue–specific gene expression // *J. Cell Biol*. – 1994. – Vol. 125. – P. 681 – 693.
72. Tolnay E., Wiethere T., Kuhnen C. et al. Expression of type IV collagenase correlates with the expression of vascular endothelial growth factor in primary non-small cell lung cancer // *J Cancer Res Clin Oncol*. – 1997. – Vol. 123. – P. 652 – 658.
73. Toschi E., Rota R., Antonini A. et al. Wild–type p53 gene transfer inhibits invasion and reduces matrix metalloproteinase–2 levels in p53–mutated human melanoma cells // *J Invest Dermatol*. – 2000. – N114. – P.1188–1194.
74. Uzui H., Lee J., Shimizu H., Tsutani H., Ueda T. The role of protein–tyrosine phosphorylation and gelatinase production in the migration and proliferation of smooth muscle cells // *Atherosclerosis*. – 2000. – Vol. 149. – P. 51 – 59.
75. Van Dinh T., Woodruff J.D. Leiomyosarcoma of the uterus // *Am J Obstet Gynecol*. – 1982. – Vol. 144. – P. 817–823.
76. Vu T.H., Shipley J.M., Bergers G. et al: MMP–9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes // *Cell*. – 1998. – N 93. – P. 411 – 422
77. Wang W–L., Soslow R., Hensley M. et al. Histopathologic prognostic factors in stage I leiomyosarcoma of the uterus: a detailed analysis of 27 cases // *Am J Surg Pathol*. – 2011. – Vol. 35. – N 4. – P. 522 – 529.
78. Wu T.I., Chang T.C., Hsueh S. et al. Prognostic factors and impact of adjuvant chemotherapy for uterine leiomyosarcoma // *Gynecol Oncol*. – 2006. – Vol. 100. – P. 166–172.
79. Witty J. P., Wright J. H., Matrisian L. M. Matrix metalloproteinases are expressed during ductal and alveolar mammary morphogenesis, and misregulation of stromelysin–1 in transgenic mice induces unscheduled alveolar development // *Mol. Biol. Cell*. – 1995. – N 6. – P. 1287 – 1303.
80. Yamamoto H., Flannery M. L., Kupriyanov S. et al. Defective trophoblast function in mice with a targeted mutation of Ets2 // *Genes & Dev*. – 1998. – N12. – P. 1315 – 1326.