

**В.А.Туманский  
Т.А.Христенко**

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** опухоли желудка, полипы, аденокарцинома, матриксные металлопротеиназы, тканевой ингибитор металлопротеиназ-1.

Надійшла: 12.08.2017  
Прийнята: 05.09.2017

УДК 616.33-006.5+616.33-006.6]-091.8-074/-078:577.112

## **ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ MMP-2, TIMP-1 В ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПОЛИПАХ И АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЖЕЛУДКА КИШЕЧНОГО ТИПА**

*Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Ранне молекулярно-генетичне та імуногістохімічне прогнозування схильності до прогресування раку легенів та органів травлення» (номер державної реєстрації 0117U002580).*

**Реферат.** Цель исследования – изучить особенности экспрессии маркеров MMP-2, TIMP-1 клетками гиперпластических полипов и аденокарциномы желудка кишечного типа. Проведено патогистологическое и иммуногистохимическое исследование гиперпластических полипов 30 пациентов 52-73 лет, аденокарциномы желудка кишечного типа 30 пациентов 49-86 лет. Установлено, что эпителиоциты и клетки стромы гиперпластических полипов характеризуются низкими уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1, раковые клетки аденокарциномы желудка кишечного типа – низкими уровнями экспрессии маркеров, в то время как клетки, формирующие микроокружение карциномы, характеризуются умеренными уровнями экспрессии исследованных маркеров. Клетки микроокружения неинвазивной карциномы активнее секретируют TIMP-1, в сравнении с клетками микроокружения инвазивного рака. Имеют место прямые корреляции между уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1 раковыми клетками и клетками микроокружения карциномы, а также обратная корреляция между уровнями экспрессии TIMP-1 и каспазы-3 раковыми клетками. Полученные данные свидетельствуют о ведущей роли клеток микроокружения рака в процессе деградации внеклеточного матрикса, а также о наличии тесной ассоциации между стромолитической активностью различных клеточных компонентов карциномы. Кроме того, получены данные, свидетельствующие об антиапоптотическом эффекте TIMP-1 в аденокарциноме желудка кишечного типа.

**Morphologia.** – 2017. – Т. 11, № 3. – С. 21-28.

© В.А.Туманский, Т.А.Христенко, 2017

✉ khristenko.ta@gmail.com

**Tumanskiy V.A., Khrystenko T.A. Immunohistochemical study of MMP-2, TIMP-1 in hyperplastic polyps and intestinal-type gastric adenocarcinoma.**

**ABSTRACT. Background.** The process of extracellular matrix degradation, provided by the matrix metalloproteinases system, plays an important role in cancerogenesis. **Objective.** To study the features of immunohistochemical expression of MMP-2, TIMP-1 by hyperplastic polyps' cells and intestinal-type gastric adenocarcinoma cells. **Methods.** Pathohistological and immunohistochemical studies of hyperplastic polyps from 30 patients (age ranged from 52 to 73 years), intestinal-type gastric adenocarcinoma from 30 patients (age ranged from 49 to 86 years) were investigated. **Results.** It has been established that hyperplastic polyps' epitheliocytes and stromal cells are characterized by the low MMP-2 and TIMP-1 expression levels, intestinal-type gastric adenocarcinoma cancer cells – by the low expression levels of these markers, while the cells of the carcinoma microenvironment are characterized by the medium expression levels of the examined markers. The cells of the microenvironment of the non-invasive carcinoma are characterized by the higher TIMP-1 expression level, compared to the cells of microenvironment of the invasive cancer. The direct correlations between the MMP-2 and TIMP-1 expression levels in the cancer cells and the cells of cancer microenvironment, and also the reverse correlation between the TIMP-1 and caspase-3 expression levels in the cancer cells were revealed. **Conclusion.** This data evidence the leading role of the cancer microenvironment cells in the process of extracellular matrix degradation, and also the close association between the stromolitic activity of the various cellular components of the carcinoma. Moreover, the anti-apoptotic effect of TIMP-1 in intestinal-type gastric adenocarcinoma was revealed.

**Key words:** stomach neoplasms, polyps, adenocarcinoma, matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinase-1.

### **Citation:**

Tumanskiy VA, Khrystenko TA. Immunohistochemical study of MMP-2, TIMP-1 in hyperplastic polyps and intestinal-type gastric adenocarcinoma. Morphologia. 2017;11(3):21-8. Russian.

## Введение

Среди агрессивных свойств рака желудка (РЖ) важную роль играет деградация внеклеточного матрикса клетками злокачественной опухоли с участием матриксных металлопротеиназ (ММПs), которая обеспечивает инвазию и метастазирование опухоли [1].

Известно, что динамичное постоянство состава внеклеточного молекулярно-волокнутого матрикса и базальных мембран зависят от соотношения активности ММПs и их тканевых ингибиторов (ТИМPs) [2]. Группу ММПs у человека составляют более 20 ферментов, способных к деградации всех компонентов внеклеточного матрикса, каждый из которых имеет структурные и функциональные отличия. На основании первичной структуры, субстратной специфичности и клеточной локализации их разделяют на 3 группы, включающие 6 подсемейств.

I. ММПs секреторного типа (классические, свободные, растворимые): коллагеназы ММП-1, -8, -13, -18; желатиназы ММП-2, -9; стромелизины ММП-3, -10, -15; матрилизины ММП-7, -26.

II. ММПs, связанные с клеточными мембранами (мембранный тип): МТ-ММП-14, -15, -16, -17, -24, -25.

III. ММПs неклассифицированные, т.е. не относящиеся к известным подсемействам: ММП-11, -12, -19, -20 [3].

Основу молекул ММПs составляют три домена: пропептид, каталитический домен с консервативным цинксодержащим участком и С-концевой гемопексиноподобный домен. ТИМPs представляют собой белковые молекулы, способные ингибировать работу активных форм ММПs, а также проферментов. Имеются 4 известных ТИМPs (ТИМР-1, -2, -3, -4), каждый из которых включает два домена: один отвечает за связывание цинксодержащих участков активных форм ММПs, в то время как другой обеспечивает связь с проферментами, а также выполнение ряда других функций [3-4].

ММП-2 и ММП-9, известные также как желатиназа А и желатиназа В, рассматриваются в качестве основных ММПs, вовлеченных в процесс опухолевой прогрессии [4]. ММП-2 обладает способностью к деградации эластина, фибронектина, остеонектина, коллагенов V, VII и X типов. Кроме того, ММП-2 обладает регуляторными свойствами, помимо всего прочего, способна активировать молекулы ММП-9. Последняя, в свою очередь, обладает способностью к деградации галектина, аггрекана, протеогликан-связанного белка, фибронектина, остеонектина, коллагенов V, VII, XIV и X типов. Совместная активация ММП-2 и ММП-9 обеспечивает деградацию основных компонентов базальных мембран – желатина, ламинина, нидогена, коллагенов I и IV типов, что обеспечивает реализацию инвазивных свойств эпителиоцитов в ходе кан-

церогенеза [2, 5].

ТИМР-1 обладает способностью ингибировать протеолитическую активность большинства из известных на сегодня ММПs (включая ММП-2 и ММП-9) путем формирования нековалентных связей с соответствующими доменами субстратных молекул. Таким образом, ТИМР-1 вовлекается в регуляцию реализации инвазивных свойств раковых клеток [6-7]. Кроме того, имеются литературные данные о том, что молекулы ТИМР-1 участвуют в регуляции пролиферации и апоптоза эпителиоцитов [7-8].

В значительном числе работ приводятся противоречивые данные об экспрессии ММП-2 и ММП-9 в РЖ [2,9-13]. В частности, доказано, что совместная активация ММП-2 и ММП-9 в РЖ обеспечивает деградацию базальных мембран и реализацию инвазивного потенциала рака [1-2,5,9,13]. Данные о прогностической ценности экспрессии ММП-2 в РЖ противоречивы: С.Л. Sampieri и соавторы (2010) пришли к выводу, что интерпретация результатов о прогностической значимости экспрессии ММП-2 затруднительна [5]; А.Р. Burlaka с соавторами (2016) получили данные, согласно которым медиана экспрессии ММП-2 для инвазивного РЖ и рака с отдаленными метастазами выше аналогичной медианы для неинвазивного РЖ и рака без метастазов, но разница между этими показателями статистически не значима [9]. Прогностическая ценность экспрессии ММП-9 изучена более обстоятельно: показана достоверная разница между уровнями экспрессии ММП-9 в неизмененной слизистой оболочке желудка, доброкачественных образованиях и РЖ, с тенденцией к нарастанию в данной последовательности [2, 5, 9]; были выявлены корреляции между уровнем экспрессии ММП-9 в РЖ и глубиной инвазии опухоли, наличием регионарных и отдаленных метастазов [2, 9, 12]; было также установлено, что высокий уровень экспрессии маркера ассоциируется с сокращением безрецидивной и общей выживаемости пациентов [2].

Известно, что функционирование молекул, обеспечивающих деградацию компонентов внеклеточного матрикса, нарушается в ходе канцерогенеза [1]. Так, для многих злокачественных опухолей, включая РЖ, характерно возрастание экспрессии ТИМР-1 [3]. В ряде исследований было показано, что уровень экспрессии ТИМР-1 напрямую коррелирует с инвазивным ростом и лимфогенным метастазированием РЖ [6, 12]. То есть, несмотря на то, что ТИМР-1 выступает в роли ингибитора ММПs и должен препятствовать инвазивному росту опухоли, уровень его экспрессии возрастает в ходе опухолевой прогрессии. Механизм этого феномена пока не ясен. Существует концепция бимодальной функции ТИМPs, согласно которой эти молекулы способны как ингибировать ММПs, так вовлекаться в

каскады их активации [12]. Высказана гипотеза о том, что возрастающая в ходе опухолевой прогрессии экспрессия TIMPs служит отражением противоопухолевого ответа клеток микроокружения рака [3]. Имеются данные, согласно которым TIMP-1 участвует в регуляции пролиферации и апоптоза клеток колоректальной карциномы [7], аденокарциномы легкого [8], посредством вовлечения в функцию MAPK и FAK-P13K/AKT сигнальных каскадов. При этом данные о функционировании TIMP-1 в роли регулятора пролиферативной и апоптогической активности клеток РЖ отсутствуют.

Известно, что MMPs и TIMPs экспрессируются не только раковыми клетками, но также и клетками их микроокружения, однако большинство исследователей не характеризуют особенности экспрессии этих маркеров отдельно в раковых клетках и в клетках микроокружения. Есть данные [5, 6] о том, что маркеры MMP-2, MMP-9 и TIMP-1, соответственно, экспрессируются преимущественно клетками микроокружения РЖ.

Таким образом, вопросы, касающиеся роли MMP-2, MMP-9 и TIMP-1, а также прогностической ценности уровня их иммуногистохимической экспрессии в прогрессии РЖ остаются пока не решенными.

**Цель:** охарактеризовать уровни иммуногистохимической экспрессии MMP-2, TIMP-1 клетками эпителия и стромы гиперпластических полипов, опухолевыми клетками и клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа, их взаимосвязь с уровнями пролиферации и апоптоза раковых клеток, а также клеток, формирующих микроокружение рака.

#### **Материалы и методы**

Проведено патогистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование гиперпластических полипов (ГП) 30 пациентов 52-73 лет, а также аденокарциномы желудка кишечного типа (АКЖКТ) 30 пациентов 49-86 лет. Неинвазивная АКЖКТ, локализуемая в пределах слизистой оболочки и подслизистой основы ( $T_{is}$ ,  $T_1$ ), составила 33,33% от общего объема исследованного материала карцином, в то время как инвазивная АКЖКТ, прорастающая в подлежащие слои стенки желудка ( $T_2$ ,  $T_3$ ,  $T_4$ ), – 66,67%. Группу контроля составили 10 образцов неизменной слизистой оболочки желудка (НСОЖ).

Образцы ГПЖ, АКЖКТ, НСОЖ фиксировали в 10% забуференном формалине, заливали в парафин. Микроструктуру образцов изучали в парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ-исследование проводили в серийных парафиновых срезах по стандартной методике с использованием моноклональных антител MMP-2 Ab-4, *Clone A-Gel VC2*, TIMP-1 Ab-2, *Clone 102D1* (Thermo Scientific, USA), а также системы визуализации EnVision FLEX с диаминобензидином (DAKO, USA). Результаты

ИГХ-исследования оценивали в микроскопе Axio-plan-2 (Carl Zeiss, Germany) при увеличении  $\times 200$ . С использованием метода фотоцифровой морфометрии [14], в каждом случае в 5 полях зрения оценивали уровень экспрессии ИГХ-маркеров, который выражали в условных единицах оптической плотности (УЕОП) и градуировали следующим образом: 0-20 УЕОП – негативная реакция, 21-50 УЕОП – низкий уровень экспрессии, 51-100 УЕОП – умеренный уровень, более 100 УЕОП – высокий уровень экспрессии.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., лицензия №AXXR712D833214FAN5). Вычисляли медиану, нижний и верхний квартили, данные представляли в виде  $Me (Q_1; Q_3)$ . Значимость различий между частотой положительной ИГХ-реакции в группах исследования проверяли с помощью критерия  $\chi^2$ . Сравнительный анализ проводили при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Изучение связей проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ). Результаты считали статистически значимыми на уровне 95% ( $p < 0,05$ ).

#### **Результаты и их обсуждение**

В результате проведенного ИГХ исследования установлено, что для эпителиоцитов неизменной слизистой оболочки желудка (НСОЖ) характерен низкий уровень цитоплазматической экспрессии MMP-2 [35,36 (29,19;56,27) УЕОП] и TIMP-1 [35,36 (29,19;56,27) УЕОП], при этом, между низкими уровнями экспрессии этих маркеров имеется прямая сильная корреляционная связь ( $r=0,80$ ).

Для гиперпластических полипов желудка (ГПЖ) также характерен низкий уровень экспрессии MMP-2 и TIMP-1. При этом иммуоокрашивание выявляется как в эпителиоцитах, так и в клеточных элементах стромы: экспрессия MMP-2 и TIMP-1 эпителиоцитами выявлена в 80% исследованных ГПЖ [35,34 (27,81;44,88) УЕОП и 37,84 (32,13;43,89) УЕОП, соответственно], экспрессия MMP-2 и TIMP-1 клетками стромы – в 33,33% исследованных ГПЖ [34,08 (27,17;41,54) УЕОП и 36,47 (32,23;45,15) УЕОП, соответственно]. Выявлена прямая сильная корреляционная связь между экспрессией MMP-2 и TIMP-1 структурными компонентами ГПЖ ( $r=0,93$  для эпителиоцитов и  $r=0,96$  для клеток стромы). Таким образом, уравновешенный баланс между низкими уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1 эпителиоцитами и клетками стромы ГПЖ поддерживает постоянство молекулярно-волоконистого матрикса гиперпластических полипов.

Аденокарцинома желудка кишечного типа (АКЖКТ) характеризуется низкими уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1 опухолевыми клетками [37,76 (25,06;48;19) УЕОП и 37,37

(25,12;45,23) УЕОП, соответственно], а также умеренными уровнями экспрессии этих маркеров клетками микроокружения [65,82 (39,76;76,97) УЕОП и 60,00 (41,34;69,53) УЕОП, соответственно]. Экспрессия MMP-2 раковыми клетками выявляется в 70% неинвазивных АКЖКТ и в 100% инвазивных карцином ( $p < 0,05$ ), соответствующие медианы составляют 34,55 (22,43;48,46) УЕОП и 38,43 (27,73;46,77) УЕОП ( $p > 0,05$ ). Экспрессия MMP-2 клетками микроокружения выявляется в 40% неинвазивных АКЖКТ и в 100%

инвазивных карцином ( $p < 0,05$ ), медианы составляют 41,78 (30,04;52,76) УЕОП и 71,15 (45,15;83,46) УЕОП ( $p > 0,05$ ). В качестве иммунопозитивных клеток микроокружения выявляются фибробласты, нейтрофилы, лимфоциты.

Экспрессия TIMP-1 опухолевыми клетками выявляется в 100% АКЖКТ, медиана для неинвазивной карциномы составляет 50,32 (30,58; 61,37) УЕОП, в то время как для инвазивной – 33,72 (23,17; 39,06) УЕОП ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

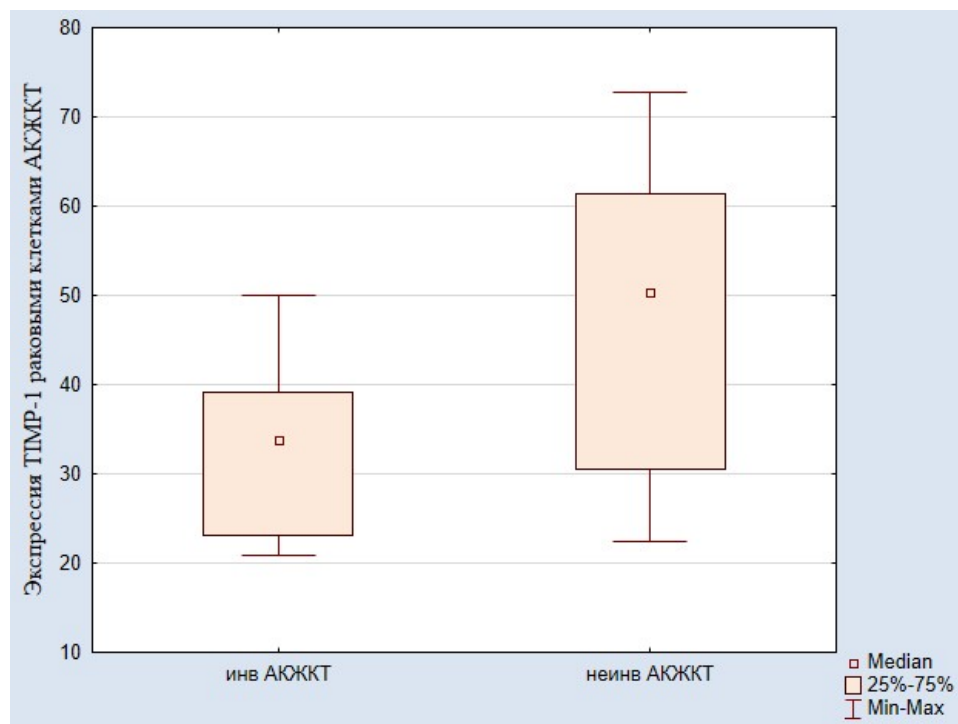


Рис. 1. Медианы экспрессии TIMP-1 раковыми клетками инвазивной аденокарциномы желудка кишечного типа (инв АКЖКТ) и неинвазивной аденокарциномы желудка кишечного типа (неинв АКЖКТ),  $p < 0,05$ .

Экспрессия TIMP-1 клетками микроокружения выявляется в 40% неинвазивных АКЖКТ и в 100% инвазивных карцином ( $p < 0,05$ ), соответствующие медианы составляют 44,82 (32,24; 50,66) УЕОП и 65,67 (45,41;73,23) УЕОП ( $p > 0,05$ ). В микроокружении раковых клеток преобладают TIMP-1-позитивные макрофаги и лимфоциты.

Анализ результатов исследования показал, что раковые клетки АКЖКТ значимо чаще экспрессируют TIMP-1, в сравнении с эпителиоцитами ГПЖ. Клетки микроокружения АКЖКТ, в свою очередь, значимо чаще экспрессируют MMP-2 и TIMP-1, в сравнении с клетками стромы ГПЖ. Кроме того, медианы экспрессии этих маркеров клетками микроокружения АКЖКТ значимо выше аналогичных показателей ГПЖ (рис. 2, 3).

АКЖКТ также отличает наличие ряда корреляций между уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1, а также TIMP-1 и каспазы-3 (табл. 1).

Выявлена прямая средней силы корреляционная связь между низкими уровнями экспрес-

сии MMP-2 и TIMP-1 опухолевыми клетками ( $r = 0,42$ ), а также прямая сильная корреляция между средними уровнями экспрессии этих маркеров клетками микроокружения АКЖКТ ( $r = 0,92$ ). Кроме того, имеется прямая сильная корреляция между низким уровнем экспрессии MMP-2 раковыми клетками и средним уровнем экспрессии маркера клетками микроокружения опухоли ( $r = 0,72$ ), прямая средней силы корреляция между низким уровнем экспрессии MMP-2 раковыми клетками и средним уровнем экспрессии TIMP-1 клетками микроокружения опухоли ( $r = 0,57$ ).

Нами в предыдущей работе [15] было установлено, что АКЖКТ характеризуется средними уровнями пролиферации и апоптоза опухолевых клеток [44,46 (30,58;70,94) % и 62,52 (47,72;87,46) УЕОП, соответственно], оцененными по ИХГ-экспрессии маркеров Ki-67 и каспазы-3, а также низкими уровнями пролиферации и апоптоза клеток микроокружения [4,30 (2,94;8,94) % и 23,32 (22,46;26,52) УЕОП, соответственно], оцененными аналогичным образом.

Проведенный в этом исследовании корреляционный анализ (см. табл. 1) выявил наличие обратной средней силы корреляционной связи между низким уровнем экспрессии TIMP-1 раковыми клетками и средним уровнем их апоптоза

( $r=-0,54$ ). Статистически значимых корреляций между уровнями экспрессии MMP-2, TIMP-1 и уровнем пролиферации клеток АКЖКТ выявлено не было (см. табл. 1).

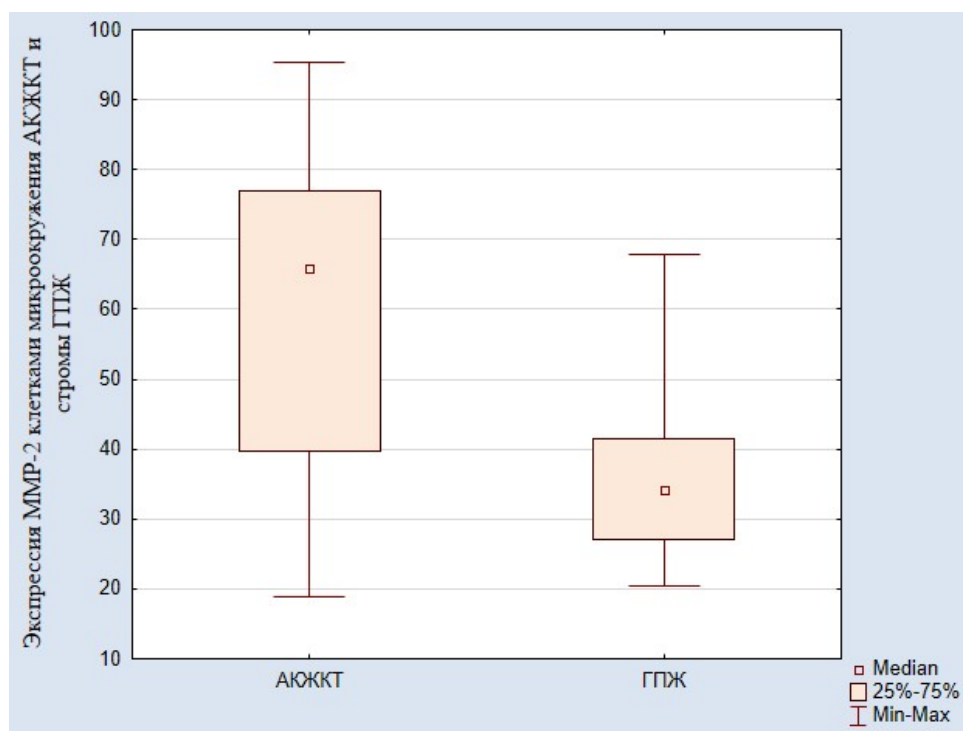


Рис. 2. Медианы экспрессии MMP-2 клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа (АКЖКТ) и стромы гиперпластических полипов желудка (ГПЖ),  $p<0,05$ .

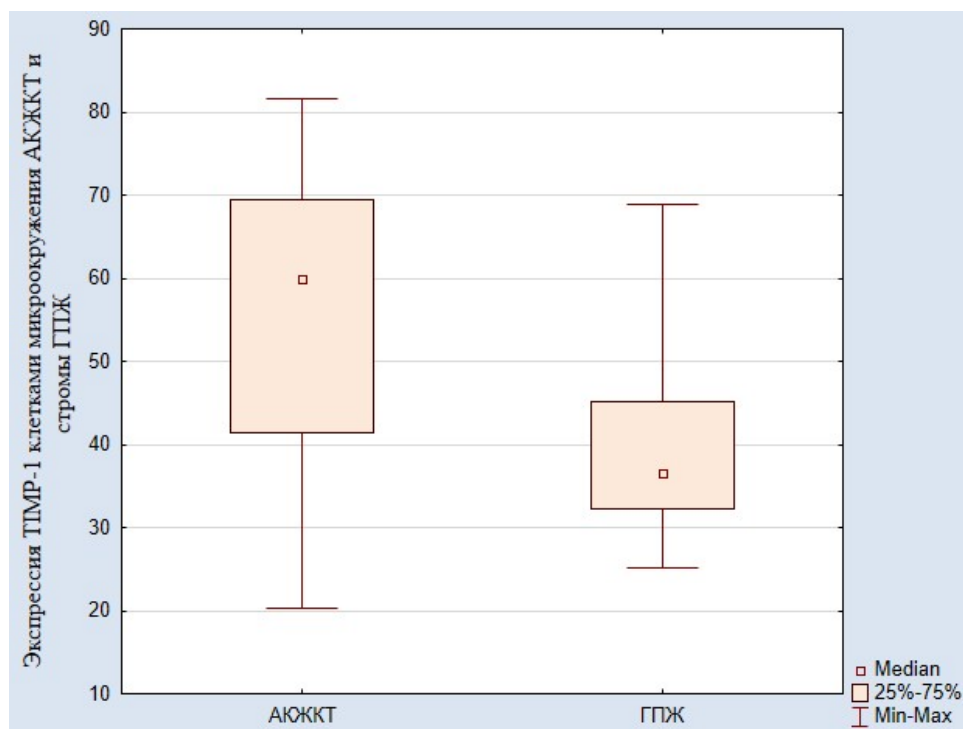


Рис. 3. Медианы экспрессии TIMP-1 клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа (АКЖКТ) и стромы гиперпластических полипов желудка (ГПЖ),  $p<0,05$ .



Корреляционные связи между уровнями экспрессии маркеров MMP-2, TIMP-1, а также Ki-67, каспазы-3 раковыми клетками и клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа

	MMP-2 клетки рака	TIMP-1 клетки рака	MMP-2 клетки микроокр	TIMP-1 клетки микроокр	Ki-67 клетки рака	casp-3 клетки рака	Ki-67 клетки микроокр	casp-3 клетки микроокр
MMP-2 клетки рака	1,00	0,42*	0,72*	0,57*	0,07	-0,05	-0,22	0,11
TIMP-1 клетки рака	0,42*	1,00	0,09	-0,02	0,28	-0,54*	0,15	-0,16
MMP-2 кл микроокр	0,72*	0,09	1,00	0,92*	0,21	-0,04	-0,04	0,26
TIMP-1 кл микроокр	0,57*	-0,02	0,92*	1,00	0,36*	-0,04	-0,07	0,16
Ki-67 клетки рака	0,07	0,28	0,21	0,36*	1,00	0,98*	0,83*	0,14
casp-3 клетки рака	-0,05	-0,54*	-0,04	-0,04	0,98*	1,00	0,04	0,25
Ki-67 кл микроокр	-0,22	0,15	-0,04	-0,07	0,85*	0,04	1,00	-0,28
casp-3 кл микроокр	0,19	-0,16	0,36*	0,46*	0,15	0,25	-0,28	1,00

Примечание: \* – статистически значимая корреляционная связь ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, нами было установлено, что раковые клетки и клетки микроокружения инвазивной АКЖКТ экспрессируют MMP-2 чаще, чем клетки неинвазивной карциномы. Кроме того, установлено, что MMP-2 чаще экспрессируется клеточными элементами микроокружения АКЖКТ, в сравнении с ГПЖ, а медиана экспрессии маркера клетками микроокружения АКЖКТ значимо больше аналогичной медианы для ГПЖ (см. рис. 2). По данным А.С. Зенюкова и др. (2010) [2] клетки инвазивного РЖ чаще экспрессируют MMP-2, в сравнении с неинвазивным раком. По данным А.Р. Burlaka и соавторов (2016) [9], значимая разница между медианами экспрессии MMP-2 клетками неинвазивного и инвазивного РЖ, а также неметастатического и метастатического РЖ отсутствует. Полученные нами данные дополняют литературные, демонстрируя особенности стромолитической активности раковых клеток и клеток микроокружения АКЖКТ.

Установлено, что медиана экспрессии TIMP-1 опухолевыми клетками неинвазивной АКЖКТ значимо выше аналогичной медианы для инвазивной карциномы (см. рис. 1), а медиана экспрессии TIMP-1 клетками микроокружения АКЖКТ значимо выше таковой для клеток стромы ГПЖ (см. рис. 3). Также было выявлено, что клетки микроокружения АКЖКТ экспрессируют TIMP-1 чаще, чем клетки стромы ГПЖ, в то время как клетки микроокружения инвазивной АКЖКТ экспрессируют TIMP-1 чаще, чем клетки микроокружения неинвазивной карциномы. Так, нами были подтверждены литературные

данные о большей активности TIMP-1 в инвазивных карциномах, в сравнении с неинвазивными [6, 12], однако, с уточнением: TIMP-1 чаще экспрессируют клетки микроокружения инвазивной АКЖКТ, но не раковые клетки. Полученные нами данные согласуются с теорией о том, что возрастающая в ходе опухолевой прогрессии экспрессия TIMPs служит отражением противоопухолевого ответа клеток, формирующих микроокружение рака [3]. Концепция о бимодальной функции TIMP-1 [12] не нашла подтверждения в нашем исследовании, поскольку между уровнями экспрессии TIMP-1 и MMP-2 были выявлены прямые корреляции.

Основываясь на литературных данных, наличие прямых корреляций между уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1, которые были выявлены нами для клеток НСОЖ, ГПЖ и АКЖКТ, можно объяснить тем, что активация MMPs *in vivo* специфически подавляется TIMPs, соответствующие домены которых связываются в эквимолярном соотношении [1]. По результатам исследований, посвященных данному вопросу, все TIMPs ингибируют полный спектр MMPs, при этом домены TIMPs по своей структуре высоко специфичны к активному связывающему участку MMPs, действуют по принципу «ключ-замок» [3]. Наличие ряда корреляций между уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1 клетками АКЖКТ (см. табл. 1), отражает взаимодействия между раковыми клетками и клетками микроокружения, реализующиеся в ходе опухолевой прогрессии.

В ряде исследований было установлено, что

TIMP-1 участвует в регуляции пролиферации и апоптоза клеток отдельных злокачественных опухолей [7-8]. Основываясь на полученных нами данных, возрастание экспрессии TIMP-1 раковыми клетками АКЖКТ ассоциируется со снижением уровня их апоптоза. По данным Song G. И соавторов (2016) [7], возрастание экспрессии TIMP-1 ассоциируется с конститутивной активацией киназы фокальной адгезии (ФАК), которая запускают процесс фосфорилирования киназы AKT1 (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase), что, в свою очередь, приводит к активации cyclin D1 и дезактивации ингибиторов CDK p21 и p27. Кроме того, индуцированное ФАК фосфорилирование АКТ влечет за собой фосфорилирование проапоптотического белка BAD, который более не связывает антиапоптотический белок Bcl-2. Как следствие, активация Bcl-2 влечет за собой снижение уровня апоптоза [16]. Так, на основании литературных данных [7, 16] можно объяснить выявленную нами ассоциацию между экспрессией TIMP-1 раковыми клетками АКЖКТ и уровнем их апоптоза.

#### Выводы

1. Большая частота, а также умеренный уровень экспрессии MMP-2 и TIMP-1 клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа, в сравнении с гиперпластическими полипами, указывают на ведущую роль клеток, формирующих микроокружение опухоли, в про-

цессе деградации внеклеточного матрикса.

2. Неинвазивную аденокарциному желудка кишечного типа, в сравнении с инвазивной карциномой, отличает более высокий уровень экспрессии TIMP-1 клетками микроокружения, что указывает на снижение функциональной активности TIMP-1 в процессе прогрессирования аденокарциномы желудка кишечного типа.

3. Наличие корреляций между уровнями экспрессии MMP-2 и TIMP-1 раковыми клетками и клетками микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа свидетельствует о тесной взаимосвязи между стромолитической активностью различных клеточных компонентов карциномы, а также между функционированием молекул MMP-2 и TIMP-1.

4. Обратная средней силы корреляция между умеренным уровнем экспрессии TIMP-1 раковыми клетками, а также умеренным уровнем их апоптоза характеризует антиапоптотический эффект TIMP-1 в аденокарциноме желудка кишечного типа.

**Перспективы дальнейших исследований** состоят в изучении специфики клеточного состава микроокружения аденокарциномы желудка кишечного типа, а также в углубленном исследовании молекулярно-генетической основы аномалий функционирования системы MMPs/TIMPс при развитии рака.

#### Литературные источники

#### References

1. Korotkova EA, Ivannikov AA, Ognerubov NA, Gershteyn ES, Chang VL. [Gastric cancer: molecular-genetic features]. Vestnik TGU. 2014;19(3):357-69. Russian.
2. Zenyukov AS, Borovskaya TF, Stilidi IS, Nikulin MP, Kurpas EK, Zenyukova TV, Bekov SV, Sagaidak SB. [Expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 in gastric cancer: clinical and morphological features]. Vestnik RONTs im. N N Blohina RAMN. (2010);21(4):23-30. Russian.
3. Markelova EV, Zdor VV, Romanchuk AL, Birko ON. [Matrix metalloproteinases: relationship with cytokine system, diagnostic and prognostic potential]. Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. (2016);2:11-22. Russian.
4. Poteryaeva ON. [Matrix metalloproteinases: structure, regulation, role in development of pathological conditions]. Meditsina i obrazovanie v Sibiri. (2010);5:52-8. Russian.
5. Sampieri CL, de la Peña S, Ochoa-Lara M, Zenteno-Cuevas R, León-Córdoba K. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human gastric cancer and superficial gastritis. World Journal of Gastroenterology. (2010);16(12):1500-5.
6. Mroczko B, Lukaszewicz-Zajc M,

- Groblewska M, Czyzewska Z, Gryko M, Guzińska-Ustymowicz K, Kemon A, Kêdra B, Szmitkowski M. Expression of tissue inhibitors of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in gastric cancer tissue. Folia Histochemica et Cytobiologia. 2009;47(3):511-6.
7. Song G, Xu S, Zhang X, Wang Y, Xiao Ch, Jiang T, Wu L, Zhang T, Sun X, Zhong L, Zhou Ch, Wang Zh, Peng Zh, Chen J, Wang X. TIMP1 is a prognostic marker for the progression and metastasis of colon cancer through FAK-PI3K/AKT and MAPK pathway. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2016;35:148-54.
8. Nalluri S, Gupta S, Kutiyawalla A, Gayatri S, Lee BR, Jiwani S, Rojiani AM, Rojiani MV. TIMP-1 Inhibits Apoptosis in Lung Adenocarcinoma Cells via Interaction with Bcl-2. PLOS one. (2015); 9: 256-264.
9. Burlaka AP, Ganusevich II, Gafurov MR, Lukin SM, Sidorik EP. Stomach Cancer: Interconnection between the Redox State, Activity of MMP-2, MMP-9 and Stage of Tumor Growth. Cancer Microenvironment. (2016);9:27-32.
10. Bornschein J, Seidel T, Langner C, Link A, Wex T, Selgrad M, Jechorek D, Meyer F, Bird-Lieberman E, Vieth M, Malferteiner P. MMP2 and

MMP7 at the invasive front of gastric cancer are not associated with mTOR expression. *Diagnostic Pathology*. 2015;10:212–7.

11. Zhang DY, Wang Y, Zhang GQ, Chu XQ, Zhou Y. Correlations of MMP-2 and TIMP-2 gene polymorphisms with the risk and prognosis of gastric cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015;8(11):20391–401.

12. Chen Y, Wei X, Guo C, Jin H, Han Zh, Qiao T, Wu K, Fan D. Runx3 suppresses gastric cancer metastasis through inactivation of MMP9 by upregulation of TIMP-1. *International Journal of Cancer*. 2011;129:1586–98.

13. Hwang TL, Changchien TT, Wang CC, Wu CM. Claudin 4 expression in gastric cancer cells enhances the invasion and is associated with the increased level of matrix metalloproteinase 2 and 9

expression. *Oncology Letters*. 2014;8:1367–71.

14. Tumanskiy VO, Yevsieiev AV, Kovalenko IS, Zubko MD, inventors; Zaporozhye State Medical University, assignee. Method of photo digital morphometrical study of immunohistochemical micro-preparations. Ukraine patent UA 99314. 2015. Int. Cl. G01N 21/00, G06K 9/0. Ukrainian.

15. Tumanskiy VA, Khrystenko TA. Comparative immunohistochemical characteristic of expression levels of Ki-67, p53, caspase-3 in non-invasive and invasive intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Pathologia*. 2016;2:70-5. DOI: 10.14739/2310-1237.2016.2.81333.

16. Sulzmaier FJ, Jean C, Schlaepfer DD. FAK in cancer: mechanistic findings and clinical applications. *Nat Rev Cancer*. 2014 Sep;14(9):598-610. doi: 10.1038/nrc3792.

**Туманський В.О., Христенко Т.О. Імуногістохімічне дослідження експресії MMP-2, TIMP-1 в гіперпластичних поліпах і аденокарциномі шлунка кишкового типу.**

**Реферат.** Мета дослідження – вивчити особливості імуногістохімічної експресії маркерів MMP-2, TIMP-1 клітинами гіперпластичних поліпів і аденокарциноми шлунку кишкового типу. Проведено патогістологічне та імуногістохімічне дослідження гіперпластичних поліпів 30 пацієнтів 52-73 років, аденокарциноми шлунку кишкового типу 30 пацієнтів 49-86 років. Встановлено, що епітеліоцити та клітини строми гіперпластичних поліпів характеризуються низькими рівнями експресії MMP-2 і TIMP-1, ракові клітини аденокарциноми шлунку кишкового типу – низькими рівнями експресії маркерів, в той час як клітини, формуючі мікрооточення карциноми, характеризуються помірними рівнями експресії досліджуваних маркерів. Клітини мікрооточення неінвазивної карциноми активніше секретують TIMP-1, в порівнянні з клітинами мікрооточення інвазивного раку. Мають місце прямі кореляції між рівнями експресії MMP-2 і TIMP-1 раковими клітинами й клітинами мікрооточення карциноми, а також зворотна кореляція між рівнями експресії TIMP-1 і каспази-3 раковими клітинами. Отримані дані свідчать щодо провідної ролі клітин мікрооточення раку в процесі деградації позаклітинного матриксу, а також щодо наявності тісної асоціації між рівнями стромолітичної активності окремих клітинних компонентів карциноми. Окрім того, отримано дані, які свідчать про антиапоптотичний ефект TIMP-1 в аденокарциномі шлунку кишкового типу.

**Ключові слова:** пухлини шлунка, поліпи, аденокарцинома, матриксні металопротеїнази, тканинний інгібітор металопротеїназ-1.