

А. В. Чепец

Иммуногистохимическая характеристика экспрессии матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) и её тканевого ингибитора ТИМР-1 в инвазивной эндометриоидной аденокарциноме матки

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: карцинома эндометрия, ММР-9, ТИМР-1.

Аденокарцинома эндометрия является наиболее распространённым злокачественным новообразованием женских половых органов. С целью определения уровней экспрессии матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) и её тканевого ингибитора ТИМР-1 клетками инвазивной эндометриоидной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ), а также площади иммунопозитивных клеток в центре опухоли и в зоне её инвазии в миометрий патогистологическими, иммуногистохимическими и морфометрическими методами исследован операционный материал 56 женщин с pT1-4 стадией распространения опухоли. Установлено, что в 100% инвазивных ЭАЭ в цитоплазме опухолевых клеток определяется высокий уровень экспрессии ММР-9, составляющий $129,11 \pm 2,38$ условных единиц оптической плотности (УЕОП), который в 2,2 раза превышает уровень экспрессии этого фермента в пролиферативном эндометрии (ПЭ). В цитоплазме немногочисленных клеток ЭАЭ выявляется низкий уровень экспрессии ТИМР-1, составляющий $9,58 \pm 2,68$ УЕОП и в 2,7 раза превышающий уровень экспрессии ТИМР-1 в ПЭ. В центре ЭАЭ ММР-9-иммунопозитивные клетки занимают $50,78 \pm 0,91\%$ площади среза опухолевой ткани, а ТИМР-1-иммунопозитивные клетки – $3,76 \pm 0,15\%$, что статистически достоверно больше площадей соответствующих иммунопозитивных клеток в ПЭ. Между уровнями экспрессии ММР-9 и ТИМР-1 клетками ЭАЭ имеет место прямая слабая корреляционная связь. Уровень экспрессии ММР-9 и ТИМР-1 клетками ЭАЭ статистически достоверно возрастает по мере снижения гистологической дифференцировки опухоли от G1 до G3. Между интенсивностью экспрессии ММР-9 клетками ЭАЭ и степенью дифференцировки опухоли имеет место прямая сильная корреляционная связь (коэффициент Пирсона $r=+0,71$). Различия между высокими уровнями экспрессии ММР-9 в центре ЭАЭ и в зоне её инвазии в миометрий, так же как и различия между низкими уровнями экспрессии ТИМР-1 в этих зонах опухоли статистически недостоверны. Полученные результаты свидетельствуют о большей способности к инвазивному росту низкокодифференцированной ЭАЭ в сравнении с высококодифференцированной опухолью.

Імуногістохімічна характеристика експресії матриксної металопротеїнази-9 (ММР-9) та її тканинного інгібітора ТИМР-1 в інвазивній ендометріоїдній аденокарциномі матки

О. В. Чепець

Аденокарцинома ендометрію є найбільш поширеною пухлиною жіночих статевих органів. З метою визначення рівнів експресії матриксної металопротеїнази-9 (ММР-9) та її тканинного інгібітора ТИМР-1 клітинами інвазивної ендометріоїдної аденокарциноми ендометрію (ЕАЕ), а також площі імунопозитивних клітин у центрі пухлини та в зоні її інвазії в міометрій патогістологічними, імуногістохімічними і морфометричними методами дослідили операційний матеріал 56 жінок із pT1-4 стадією поширення пухлини. Встановили, що у 100% інвазивних ЕАЕ в цитоплазмі пухлинних клітин визначається високий рівень експресії ММР-9, котрий становить $129,11 \pm 2,38$ умовних одиниць оптичної щільності (УООЩ), що у 2,2 раза перевищує рівень експресії цього ферменту у проліферативному ендометрії (ПЕ). У цитоплазмі нечисленних пухлинних клітин ЕАЕ виявляється низький рівень експресії ТИМР-1, котрий становить $9,58 \pm 2,68$ УООЩ і в 2,7 раза перевищує рівень експресії ТИМР-1 у ПЕ. У центрі ЕАЕ ММР-9-імунопозитивні клітини посідають $50,78 \pm 0,91\%$ площі зрізу пухлинної тканини, а ТИМР-1-імунопозитивні клітини – $3,76 \pm 0,15\%$, що статистично вірогідно більше площ відповідних імунопозитивних клітин у ПЕ. Між рівнями експресії ММР-9 і ТИМР-1 клітинами ЕАЕ є прямий слабкий кореляційний зв'язок. Рівень експресії ММР-9 і ТИМР-1 клітинами ЕАЕ статистично вірогідно зростає зі зменшенням гістологічного диференціювання пухлини від G1 до G3. Між інтенсивністю експресії ММР-9 пухлинними клітинами та ступенем гістологічного диференціювання ЕАЕ є прямий сильний кореляційний зв'язок (коефіцієнт Пірсона $r=+0,71$). Різниця між високими рівнями експресії ММР-9 у центрі ЕАЕ та в зоні її інвазії в міометрій, а також відмінності між низькими рівнями експресії ТИМР-1 у цих зонах пухлини не є статистично вірогідними. Результати, що одержали, свідчать про більшу здатність до інвазивного росту низкокодиференційованої ЕАЕ в порівнянні з високодиференційованою пухлиною.

Ключові слова: карцинома ендометрію, ММР-9, ТИМР-1.**Патологія.** – 2015. – №3 (35). – С. 72–77

Immunohistochemical characterization of the expression of matrix metalloproteinase - 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1) in the invasive endometrioid endometrial carcinoma

A. V. Chepets

Endometrial carcinoma is the most common gynecological malignancy in developed countries.

Aim. With the aim to determine MMP-9 and TIMP-1 expression levels in the invasive endometrioid endometrial carcinoma (EEC) cells and areas of the immunopositive cells in the center of the tumor and in the area of tumor invasion into the myometrium pathohistological, immunohistochemical and morphometric study of histological specimens of operative material of 56 women with pT1-4 stage of tumor was performed.

Methods and results. It was found that MMP-9 and TIMP-1 expression occurs in 100% of invasive EEC. The MMP-9 expression level in the cytoplasm of tumor cells is high – 129.11 ± 2.38 CUOD, which is 2.2 times more than its level in normal proliferative endometrium – 59.45 ± 9.58 CUOD ($p < 0.05$). The TIMP-1 expression level is 9.58 ± 2.68 CUOD that is 2.69 times more than the expression level of TIMP-1 in normal proliferative endometrium (3.56 ± 0.35 CUOD, $p < 0.05$). MMP-9 immunopositive cells make up $50.78 \pm 0.91\%$

of area of invasive EEC tissue section and TIMP-1 immunopositive cells make up $3.76 \pm 0.15\%$ of area of tumor tissue section. That is statistically significantly more than in normal proliferative endometrium, which has $23.31 \pm 1.31\%$ of MMP-9 immunopositive cells and $2.82 \pm 0.14\%$ of TIMP-1 immunopositive cells of endometrial glands. Differences between high levels of MMP-9 in the center of EEC and in the tumor myometrial invasion zone, as well as differences between the very low expression levels of TIMP-1 in these regions of the tumor were not statistically significant. With increasing of EEC histological grade the MMP-9 and TIMP-1 expression levels significantly increase ($p < 0.05$). There is direct weak correlation between the MMP-9 and TIMP-1 expression levels in the cells of EEC (Pearson coefficient $r = +0.31$). Direct strong correlation between the expression level of MMP-9 in the tumor cells and the grade of tumor (Pearson coefficient $r = +0.71$) is revealed.

Conclusion. The results of the study showed the increasing invasive capacity of EAE with the tumor grade increasing.

Key words: Carcinoma Of Endometrium, MMP-9, TIMP-1.

Pathologia. 2015; №3 (35): 72–77

Аденокарцинома эндометрия – наиболее распространённое злокачественное новообразование женских половых органов [1]. Одним из важных прогностических параметров её агрессивного развития является уровень экспрессии матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ TIMP-1, характеризующий способность клеток новообразования к инвазии и метастазированию [2,3,4]. В физиологических условиях экспрессия MMP-9 выявляется в эндометрии в эпителиальных, стромальных, иммунных клетках и клетках сосудов на протяжении менструального цикла и во время беременности [4], а активность MMP-9 регулируется TIMP-1. При этом баланс между активностью MMP и TIMP является необходимым условием нормальных физиологических функций эндометрия [5].

В нескольких исследованиях сообщалось о повышенной экспрессии MMP-9 и сниженной экспрессии её ингибитора TIMP-1 в карциноме эндометрия, связи их уровней с гистологическим типом карциномы эндометрия, глубиной инвазии опухоли в миометрий и выживаемостью больных [2,3,6,7]. Но особенности экспрессии этих маркеров в инвазивных аденокарциномах эндометрия изучены не полностью: недостаточно изучены особенности экспрессии данных маркеров в центральном клеточном массиве аденокарциномы эндометрия и в зоне её инвазии в миометрий.

Цель работы

Определение уровней экспрессии матричной металлопротеиназы-9 и её тканевого ингибитора TIMP-1 клетками эндометриальной аденокарциномы эндометрия, а также площади иммунопозитивных клеток в центральном клеточном массиве опухоли и в зоне её инвазии в миометрий.

Материалы и методы исследования

Патогистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования проведены на операционном материале 56 пациенток в возрасте от 43 до 69 лет, больных инвазивной эндометриальной аденокарциномой эндометрия с pT1-4 стадией распространения первичной опухоли. Группу сравнения составили 30 женщин перименопаузального возраста, у которых на основании клинических и морфологических данных был диагностирован эндометрий фазы пролиферации.

В удалённой матке больных инвазивной аденокарциномой эндометрия вырезались кусочки из основного

массива опухоли и из зоны её инвазии в миометрий, которые фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине и заливали в парафин. При микроскопии гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли гистологический вариант и степень дифференцировки эндометриальной аденокарциномы эндометрия.

ИГХ исследование проводили по стандартной методике [8] с использованием первичных поликлональных кроличьих антител против матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и моноклональных человеческих антител против тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ-1 (TIMP-1), Clone 102D1, а также системы детекции EnVisionFLEX с диаминобензидином (DAKO, США). Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в бальзам.

Для анализа связи между экспрессией MMP-9, TIMP-1 и степенью гистологической дифференцировки эндометриальной аденокарциномы исследованные опухоли разделили на 3 группы: первую группу составили 55,36% (31 наблюдение) эндометриальных аденокарцином с высокой степенью дифференцировки (G1), во вторую группу вошли умеренно-дифференцированные (G2) аденокарциномы, которые составили 32,14% (18 наблюдений), остальные 12,5% (7 наблюдений) низкодифференцированных аденокарцином (G3) составили 3 группу.

Уровень экспрессии MMP-9 и TIMP-1 опухолевыми клетками, а также площадь иммунопозитивных клеток в срезе опухоли определяли фотоцифровой морфометрией [9]. Для этого микропрепараты с соответствующей иммунопозитивной реакцией фотографировали цифровой фотокамерой «Olympus 3040» (Япония) в микроскопе Axioplan 2 («Carl Zeiss», ФРГ) при увеличении $\times 200$ в 5 полях зрения и в дальнейшем анализировали с использованием медицинской программы обработки цифровых изображений ImageJ [10]. В плагине Colour Deconvolution этой программы во встроенной схеме анализа «гематоксилин+DAB» по уровню DAB-окрашивания количественно анализировали интенсивность экспрессии изучаемых маркеров в условных единицах оптической плотности (УЕОП) от 0 – белый до 255 – чёрный цвет, которую градуировали на 4 уровня: негативная реакция – 0–20 УЕОП; низкий уровень экспрессии – 21–50 УЕОП; умеренный уровень экспрессии – 51–100 УЕОП; высокий уровень экспрессии – более 100 УЕОП.

Морфометрическое измерение площади, занимаемой MMP-9- и TIMP-1-иммунопозитивными клетками в срезах аденокарциномы эндометрия, проводили с использованием программы ImageJ, в которой в цифровых изображениях опухоли определяли суммарную площадь экспрессии каждого маркера, представлявшую собой процентное соотношение числа пикселей иммунопозитивного цифрового изображения соответствующего маркера к общему числу пикселей в изображении, выраженному в %. Оценку уровня экспрессии MMP-9- и TIMP-1, а также площади иммунопозитивных опухолевых клеток рассчитывали раздельно в основном клеточном массиве аденокарциномы эндометрия и в зоне её инвазии в миометрий.

Результаты исследования статистически обрабатывали при помощи статистического пакета «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., лицензия №АХХR712D833214FAN5). Вычисляли среднее значение (M), среднее квадратическое отклонение (σ), стандартную ошибку репрезентативности среднего значения (m), рассчитывали 95% доверительный интервал среднего значения. Корреляционную связь определяли с расчётом коэффициента Пирсона (для непараметрических данных). Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По данным проведённого иммуногистохимического анализа установлено, что в нормальном пролиферативном эндометрии экспрессия MMP-9 наблюдалась в цитоплазме железистого и покровного эпителия, в цитоплазме фибробластов, лимфоцитов и эндотелиальных клеток сосудов, а также в межклеточном матриксе стромы эндометрия. TIMP-1 определялся в виде мелких зёрен в тех же клеточных элементах и в межклеточном матриксе нормального пролиферативного эндометрия. Сходная локализация экспрессии данных молекул в нормальном пролиферативном эндометрии была описана М. Jeziorska с соавторами [11].

В эндометриоидной карциноме эндометрия определялась диффузная цитоплазматическая экспрессия MMP-9 в опухолевых клетках желёз, в меньшей степени – в фибробластах, лимфоцитах, эндотелиальных клетках и в межклеточном матриксе опухолевой стромы. Экспрессия TIMP-1 была сосредоточена в цитоплазме одиночных или прилежащих друг к другу клеток опухолевых желёз, очень низкая цитоплазматическая экспрессия TIMP-1 наблюдалась в фибробластах и лимфоцитах опухолевой стромы, а также в эндотелии сосудов. Аналогичную ло-

кализацию иммуногистохимической экспрессии данных молекул в аденокарциномах эндометрия отмечали также Jong-Ryeol Choi с соавторами [12]. Морфометрический анализ экспрессии MMP-9 показал, что в инвазивной эндометриоидной аденокарциноме в 100% случаев наблюдался высокий уровень экспрессии MMP-9 в цитоплазме опухолевых клеток, составивший $129,11 \pm 2,38$ УЕОП. Он был в 2,2 раза выше, чем в эпителии желёз нормального пролиферативного эндометрия, где уровень экспрессии MMP был умеренным – $59,45 \pm 9,58$ УЕОП ($p < 0,05$) (табл. 1). Относительная площадь MMP-9-иммунопозитивных клеток в эндометриоидной карциноме эндометрия составляла $50,78 \pm 0,71\%$ и была в 2,1 раза больше, чем в нормальном пролиферативном эндометрии – $23,31 \pm 1,61\%$ ($p < 0,05$). В строме аденокарциномы отмечался умеренный уровень экспрессии MMP-9, составивший $51,21 \pm 0,72$ УЕОП и статистически достоверно не отличавшийся от низкого уровня экспрессии MMP-9 в строме нормального пролиферативного эндометрия – $43,75 \pm 3,61$ УЕОП ($p > 0,05$) (табл. 1).

Имуногистохимический анализ показал, что экспрессия TIMP-1 наблюдалась в виде мелких зёрен в отдельных опухолевых клетках инвазивной эндометриоидной аденокарциномы эндометрия. Уровень его экспрессии составил $9,58 \pm 2,68$ УЕОП, что было статистически достоверно ($p < 0,05$) в 2,69 раза выше в сравнении с уровнем экспрессии TIMP-1 в нормальном пролиферативном эндометрии ($3,56 \pm 0,35$ УЕОП) (табл. 1). Несмотря на почти трёхкратное повышение уровня экспрессии этого маркера в клетках опухоли, он оставался крайне низким и оценивался в принятой нами градации как отрицательный. E. Wlazlak с соавторами [13] в своих исследованиях также получили данные о низких уровнях экспрессии TIMP-1 в эндометриальной карциноме. Относительная площадь TIMP-1-иммунопозитивных клеток аденокарциномы составляла $3,76 \pm 0,15\%$, что статистически достоверно выше, чем в нормальном пролиферативном эндометрии, где площадь иммунопозитивных клеток была $1,36 \pm 0,14\%$ ($p < 0,05$). Сходные результаты экспрессии MMP-9 и TIMP-1 в аденокарциноме эндометрия были получены Di Nezza с соавторами [3]. Увеличение уровня экспрессии MMP-9 клетками эндометриоидной аденокарциномы эндометрия по сравнению с нормальным пролиферативным эндометрием свидетельствует об увеличении их стромолитической активности и косвенно указывает на усиление способности опухолевых клеток к инвазии и метастазированию, то есть на прогрессию опухоли. Наличие связи между уровнем экспрессии

Таблица 1

Уровень экспрессии молекул MMP-9 и TIMP-1 клетками инвазивной эндометриоидной аденокарциномы эндометрия и клетками пролиферативного эндометрия

Изученные компартменты	Уровень экспрессии MMP-9 (УЕОП)		Уровень экспрессии TIMP-1 (УЕОП)	
	в инвазивной аденокарциноме	в эндометрии фазы пролиферации	в инвазивной аденокарциноме	в эндометрии фазы пролиферации
Железистый компартмент	$129,11 \pm 2,38\#$	$59,45 \pm 9,58\#$	$9,58 \pm 2,68^*$	$3,56 \pm 0,35^*$
Стромальный компартмент	$51,21 \pm 0,72$	$43,75 \pm 3,61$	$6,72 \pm 0,55$	$7,76 \pm 0,7$

Примечания: # – достоверная разница ($p < 0,05$) экспрессии MMP-9; * – достоверная разница ($p < 0,05$) экспрессии TIMP-1.

ММП-9 и прогрессией карциномы эндометрия ранее продемонстрирована L. A. Di Nezza с соавторами [3] с использованием гибридизации *in situ* и зимографии.

При сравнительном анализе уровня экспрессии ММП-9 в центре аденокарциномы эндометрия, составлявшего 133,64±3,08 УЕОП, и в зоне её инвазии в миометрий, составлявшего 124,58±2,21 УЕОП, статистически достоверной разницы не установлено ($p>0,05$). Также не выявлено статистически значимых различий между относительной площадью ММП-9-иммунопозитивных опухолевых клеток в центральном клеточном массиве аденокарциномы и в зоне её инвазии в миометрий (52,41±1,21% и 48,85±0,87% соответственно, $p>0,05$).

Проведённые исследования показали, что уровень экспрессии ТИМП-1 в центральном клеточном массиве опухоли и в зоне её инвазии в миометрий составил 8,14±0,71 УЕОП и 11,02±0,63 УЕОП соответственно, разница между этими уровнями экспрессии статистически недостоверна ($>0,05$). Также нами не установлено статистически значимых различий между относительной площадью ТИМП-1-иммунопозитивных опухолевых клеток в центральном клеточном массиве аденокарциномы и в зоне её инвазии в миометрий (3,19±0,28% и 4,32±0,25% соответственно, $p>0,05$).

Результаты исследования уровней экспрессии ММП-9 и ТИМП-1, а также относительной площади ММП-9- и ТИМП-1-иммунопозитивных клеток в эндометриоидных аденокарциномах эндометрия различной степени дифференцировки (G1, G2, G3) представлены в *таблицах* 2, 3.

Приведённые данные свидетельствуют о том, что высокий уровень экспрессии ММП-9 в опухолевых железах эндометриоидной карциномы тела матки прогрессивно

увеличивается со снижением гистологической дифференцировки опухоли: в высокодифференцированной аденокарциноме (G1) он составлял 106,76±5,99 УЕОП, в умеренно-дифференцированном раке эндометрия (G2) – 129,85±3,75 УЕОП, а в низкодифференцированных аденокарциномах эндометрия (G3) – 139,54±0,78 УЕОП. Разница между сравниваемыми группами G1, G2 и G3 статистически достоверна ($p<0,05$). Одновременно с этим не выявлено статистически достоверной разницы в уровне экспрессии ММП-9 клетками стромы эндометриоидной аденокарциномы разной степени дифференцировки (в аденокарциноме G1, G2 и G3 он составлял 4,85±0,65, 7,68±1,08 и 8,53±0,08 УЕОП соответственно). При этом статистически значимых различий в относительной площади ММП-9-иммунопозитивных клеток в опухолях различной степени дифференцировки не выявлено ($p>0,05$) (*табл.* 2). Полученные данные о наличии связи между уровнем экспрессии ММП-9 и степенью гистологической дифференцировки согласуются с сообщениями L. A. Di Nezza с соавторами и A. Aglund с соавторами [7,8], но отличается от результатов, полученных O. Graesslin с соавторами, которые не выявили подобной закономерности [14]. Отличия могут объясняться разными методами оценки результатов иммуногистохимических исследований. Унификация исследований могла бы устранить возникающие противоречия получаемых данных.

Иммуногистохимический анализ уровня экспрессии ТИМП-1 в эндометриальной аденокарциноме разной степени дифференцировки показал наличие статистически достоверной разницы в увеличении уровня экспрессии ТИМП-1 эпителием желёз и клетками стромы в низкодифференцированной аденокарциноме эндометрия (G3) по

Таблица 2

Характеристика экспрессии ММП-9 в эндометриоидной аденокарциноме эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Характеристика экспрессии	Компартмент опухоли	Экспрессия ММП-9		
		G1	G2	G3
Уровень экспрессии (УЕОП)	Опухолевые железы	106,76±5,99#	129,85±3,75&	139,54±0,78*
	Строма опухоли	52,71±0,80	51,42±1,60	47,81±0,42
Относительная площадь иммунопозитивных клеток (в % от общей площади клеток)	Опухолевые железы	54,72±0,31	51,30±1,35	41,87±2,35
	Строма опухоли	20,67±0,31	20,15±0,63	24,29±3,12

Примечание: – достоверная разница ($p<0,05$) между G1# и G2&, между G2& и G3*, между G1# и G3*.

Таблица 3

Характеристика экспрессии ТИМП-1 в эндометриоидной аденокарциноме эндометрия в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Характеристика экспрессии	Компартмент опухоли	Экспрессия ТИМП-1		
		G1	G2	G3
Уровень экспрессии (УЕОП)	Опухолевые железы	7,45±0,51*	7,79±0,67**	10,89±0,40***
	Строма опухоли	4,85±0,65#	7,68±1,08##	8,53±0,08###
Относительная площадь иммунопозитивных клеток (в % от общей площади клеток)	Опухолевые железы	4,20±0,20	3,05±0,23	4,27±0,16
	Строма опухоли	1,91±0,32°	3,01±0,20°°	3,85±0,03°°°

Примечания: – достоверная разница ($p<0,05$) между G1* и G3***; – достоверная разница ($p<0,05$) между G1# и G2##, между G1# и G3###; – достоверная разница ($p<0,05$) между G1° и G3°°°

сравнению с аденокарциномой высокой степени дифференцировки (G1) (табл. 3), а также достоверное возрастание относительной площади TIMP-1-позитивных клеток стромы низкодифференцированной аденокарциномы в сравнении с высокодифференцированной карциномой (табл. 3). Полученные данные согласуются с сообщениями об увеличении уровней mRNA тканевого ингибитора матриксных металлопротеаз TIMP-1 в карциноме эндометрия с увеличением степени её гистологической дифференцировки [14].

Корреляционный анализ показал, что у больных инвазивной эндометриоидной аденокарциномой эндометрия определяется прямая слабая корреляционная связь между интенсивностью экспрессии MMP-9 и TIMP-1 опухолевыми клетками (коэффициент Пирсона $r=+0,31$). Это свидетельствует о разобщении механизмов взаимного корегулирования уровней MMP-9 и её ингибитора TIMP-1, что способствует инвазивному росту эндометриоидной аденокарциномы матки.

Между уровнем экспрессии MMP-9 опухолевыми клетками и степенью дифференцировки аденокарциномы эндометрия наблюдается прямая сильная корреляционная связь (коэффициент Пирсона $r=+0,73$). Это указывает на усиление способности опухолевых клеток лизировать компоненты межклеточного матрикса с увеличением степени дифференцировки опухолевой ткани, что может свидетельствовать об усилении инвазивных и метастатических свойств карцином эндометрия с более высокой степенью дифференцировки.

Выводы

1. В 100% инвазивных эндометриоидных аденокарцином эндометрия в цитоплазме опухолевых клеток определяется высокий уровень экспрессии MMP-9, составляющий $129,11 \pm 2,38$ УЕОП, что статистически достоверно в 2,2 раза выше уровня экспрессии этого

фермента ($59,45 \pm 9,58$ УЕОП) в нормальном пролиферативном эндометрии.

2. Низкий уровень экспрессии TIMP-1, составляющий $9,58 \pm 2,68$ УЕОП, выявляется в цитоплазме немногочисленных опухолевых клеток инвазивной эндометриоидной аденокарциномы эндометрия, однако этот уровень статистически достоверно в 2,7 раза выше уровня экспрессии TIMP-1 ($3,56 \pm 0,35$ УЕОП) в нормальном пролиферативном эндометрии.

3. В инвазивной эндометриоидной аденокарциноме матки MMP-9-иммунопозитивные клетки занимают $50,78 \pm 0,91\%$ общей площади среза опухолевой ткани, а TIMP-1-иммунопозитивные клетки – $3,76 \pm 0,15\%$ площади среза опухоли, что статистически достоверно больше площадей соответствующих иммунопозитивных клеток эндометриальных желёз в нормальном пролиферативном эндометрии, составляющих $23,31 \pm 1,31\%$ и $2,82 \pm 0,14\%$ соответственно. Между уровнями экспрессии MMP-9 и TIMP-1 опухолевыми клетками инвазивной эндометриоидной аденокарциномы матки имеет место прямая слабая корреляционная связь (коэффициент Пирсона $r=+0,31$).

4. Уровень экспрессии MMP-9 и TIMP-1 опухолевыми клетками эндометриоидной аденокарциномы эндометрия статистически достоверно возрастает по мере увеличения степени гистологической дифференцировки этой опухоли. Между интенсивностью экспрессии MMP-9 опухолевыми клетками и степенью дифференцировки опухоли имеет место прямая сильная корреляционная связь (коэффициент Пирсона $r=+0,71$).

5. Различия между высокими уровнями экспрессии MMP-9 в центре эндометриоидной аденокарциномы эндометрия и в зоне её инвазии в миометрий, так же как и различия между низкими уровнями экспрессии TIMP-1 в этих зонах опухоли, статистически недостоверны.

Список литературы

1. Cancer Statistics, 2008 / A. Jemal, R. Siegel, E. Ward et al. // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2008. – Vol. 58(2). – P. 71–96.
2. Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP9) in endometrial cancer – MMP9 correlates to the grade and the stage / K. Aglund, M. Rauvala, U. Puistola et al // Gynecol Oncol. – 2004. – Vol. 94. – P. 699–704.
3. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion / L. Di Nezza, A. Misajon, J. Zhang et al. // Cancer. – 2002. – Vol. 94. – P. 1466–1475.
4. Novel functions of TIMPs in cell signaling / R. Chirco, X.W. Liu, K.K. Jung, H.R.C. Kim // Cancer and Metastasis Reviews. – 2006. – Vol. 25(1). – P. 99–113.
5. Curry T.E. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle / T.E. Curry, K.G. Osteen // Endocrine Reviews. – 2003. – Vol. 4. – P. 428–465.
6. Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium / C. Amalinei, C. Cianga, R. Balan et al. // Annals of Anatomy. – 2011. – Vol. 193(1). – P. 43–55.
7. Abnormal expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP9) correlates with clinical course in Chinese patients with endometrial cancer / F. Yu, Q.P. Jiang, Y. Zhou et al. // Disease Marker. – 2012. – Vol. 32. – P. 321–327.
8. Dabbs D.J. Diagnostic Immunohistochemistry / D.J. Dabbs. – 3rd ed. – N.Y. : Ch. Livingstone, 2010. – 941 p.
9. Патент України на корисну модель №99314 Україна, МПК (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Свєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко ; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – №10 14 103; заявл. 29.12.2014; опубл. 25.05.15 // Бюл. №10.
10. Rasband W.S. National Institutes of Health, Bethesda / W.S. Rasband, U.S. ImageJ. – Maryland, USA – <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997–2012.
11. Immunolocalization of the matrix metalloproteinases gelatinase B and stromelysin 1 in human endometrium throughout the menstrual cycle / M. Jeziorska, H. Nagase, L.A. Salamonsen, D.E. Woolley // J Reproduction and Fertility. – 1999. – Vol. 107. – P. 43–51.
12. Expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 as prognostic factors in endometrial cancer / Jong-Ryeol Choi, Tae-Hwa Lee, Young-Lim Oh et al. // Korean J Gynecol Oncol. – 2008. – Vol. 19(1). – P. 57–67.

13. Expression of metalloproteinases MMP-1 and MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases TIMP-1 in cases of endometrial carcinoma and endometrial hyperplasia / E. Wlazlak, G. Surkont, J. Kobos, W. Tyliński et al. // *Menopause Review*. – 2006. – Vol. 6. – P. 363–366.
 14. Määttä M. Localization of MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 and TIMP-3 messenger RNA in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. Enhanced expression by endometrial carcinomas is associated with low differentiation / M. Määttä, Y. Soini, A. Liakka, H. Autio-Harmainen // *Am J Clinical Pathology*. – 2000. – Vol. 114. – P. 402–411.
- References**
1. Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray, T., & Thun, M. J. (2008) Cancer Statistics, 2008. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 58(2), 71–96. doi: 10.3322/CA.2007.0010.
 2. Aglund, K., Rauvala, M., Puistola, U., Angstrom, T., Turpeenniemi-Hujanen, T., Zackrisson, B., Stendahl, U. (2004) Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP9) in endometrial cancer – MMP9 correlates to the grade and the stage. *Gynecol Oncol*, 94, 699–704. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.06.028>.
 3. Di Nezza, L., Misajon, A., Zhang, J., Jobling, T., Quinn, M. A., Ostor, A. G., et al. (2002) Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. *Cancer*, 94, 1466–1475.
 4. Chirco, R., Liu, X. W., Jung, K. K., & Kim, H. R. C. (2006) Novel functions of TIMPs in cell signaling. *Cancer and Metastasis Reviews*, 25(1), 99–113. doi: 10.1007/s10555-006-7893-x.
 5. Curry, T. E., Jr., & Osteen, K. G. (2003) The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocrine Reviews*, 4, 428–465. doi: 10.1210/er.2002-0005.
 6. Amalinei, C., Cianga, C., Balan, R., Cianga, P., Guisca, S., & Caruntu, I.-D. (2011) Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium. *Annals of Anatomy*, 193(1), 43–55. doi: 10.1016/j.aanat.2010.09.009.
 7. Yu, F., Jiang, Q.P., Zhou, Y., Yang, Zh., Yu, X., Wang, H., et al. (2012) Abnormal expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP9) correlates with clinical course in Chinese patients with endometrial cancer. *Disease Marker*, 32, 321–327. doi: 10.3233/DMA-2011-0886.
 8. Dabbs, D. J. (2010) *Diagnostic Immunohistochemistry*. New York: Ch. Livingstone.
 9. Tumanskyi, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., Zubko, M. D. ; Zaporizkyi derzhavnyi medychnyi universytet (patentee) (2015) Patent Ukrainy na korysnu model №99314 Ukraina, MPK (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Sposib fototsyfrovoyi morfometrii imunohistokhimichnykh preparativ [Ukraine patent for utility model №99314 Ukraine, morphology immunohistochemical method fototsyfrovoyi druzh MIIK (2015) G01N 21/00, G06K 9/00]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
 10. Rasband, W. S. & ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, Retrieved from USA – <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997–2012.
 11. Jeziorska, M., Nagase, H., Salamonsen, L. A., & Woolley, D. E. (1999) Immunolocalization of the matrix metalloproteinases gelatinase B and stromelysin 1 in human endometrium throughout the menstrual cycle. *J Reproduction and Fertility*, 107, 43–51. doi: 10.1530/jrf.0.1070043.
 12. Jong-Ryeol, Choi, Tae-Hwa, Lee, Young-Lim, Oh, Chun-Jun, Lee, & Won-Gyu, Kim. (2008) Expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 as prognostic factors in endometrial cancer. *Korean J Gynecol Oncol*, 19(1), 57–67.
 13. Wlazlak, E., Surkont, G., Kobos, J., Tyliński, W., Stetkiewicz, T., & Suzin, J. (2006) Expression of metalloproteinases MMP-1 and MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases TIMP-1 in cases of endometrial carcinoma and endometrial hyperplasia. *Menopause Review*, 6, 363–366.
 14. Määttä, M., Soini, Y., Liakka, A., & Autio-Harmainen, H. (2000) Localization of MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 and TIMP-3 messenger RNA in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. Enhanced expression by endometrial carcinomas is associated with low differentiation. *Am J Clinical Pathology*, 114, 402–411. doi: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/114.3.402>.

Сведения об авторе:

Чепец А. В., аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: aleksandr-chepec@rambler.ru.

Відомості про автора:

Чепець О. В., аспірант каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, E-mail: aleksandr-chepec@rambler.ru.

Information about author:

Chepets A. V., Postgraduate Student, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: aleksandr-chepec@rambler.ru.

Надійшла в редакцію 12.11.2015 р.