

Матриксные металлопротеиназы и компоненты системы активации плазминогена в патогенезе и клиническом течении рака толстой кишки

Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С.

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина» РАОН,
115446, Москва, Каширское ш., 24. E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Представлен обзор данных литературы о роли ассоциированных с опухолью протеолитических систем в реализации таких фундаментальных свойств злокачественных опухолей, как инвазия и метастазирование, а также подведены итоги собственных клинических исследований компонентов системы активации плазминогена (uPA, tPA и PAI-1), ключевых матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМП) при раке толстой кишки (РТК). Исследования включали 2 группы пациентов, прослеженных в течение 5 и 10 лет, у которых иммуноферментными методами были определены уровни вышеуказанных белков в плазме крови и/или опухоли. Продемонстрировано, что значимым и независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных III стадии является высокое ($>4,0$ нг/мг белка) содержание PAI-1 в опухоли. Высокие предоперационные уровни ММП-7 и ТИМП-1 в плазме крови (пороговые значения 4,0 и 347 нг/мл соответственно) являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза, а при однофакторном анализе неблагоприятное прогностическое значение имеет также высокий ($>7,8$ нг/мг белка) уровень ММП-7 в опухоли больных с диссеминированным процессом. Показано, что ассоциированные с опухолью протеазы не только играют важную роль в формировании инвазивного и метастатического потенциала РТК, но и оказывают существенное влияние на клиническое течение этого заболевания.

Ключевые слова: активатор плазминогена урокиназного и тканевого типов, активатор плазминогена тканевого типа, ингибитор активаторов плазминогена 1 типа, матриксные металлопротеиназы 2, 7, 9, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа, рак толстой кишки

Общие представления о роли ассоциированных с опухолью протеолитических систем в инвазии и метастазировании

Одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей, отличающих их от доброкачественных новообразований, составляет способность к инвазии в окружающие ткани и образованию метастазов в отдаленных органах. На всех этапах инвазии и метастазирования опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом (ВКМ), поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеазами. Протеазы участвуют также в опухолевом ангиогенезе, способствуя распространению новых капиллярных сосудов. Дегградация ВКМ — неотъемлемая часть не только опухолевой прогрессии, но и многих физиологических процессов, например, развития, роста и регенерации ткани [39]. Но в процессе канцерогенеза регуляторные пути, влияющие на дегградацию ВКМ, как правило, нарушаются и происходит патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [19].

Во все этапы прогрессирования опухолевого процесса вовлечено семейство матриксных металлопротеиназ (ММП), состоящее из более 20 секретируемых или связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз, способных к дегградации практически всех компонентов ВКМ (рис. 1). В зависимости от структурно-функциональных особенностей и субстратной специфичности ММП делят на несколько подсемейств, основными из которых являются коллагеназы широкого спектра действия

(например, ММП-1, 8, 13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (ММП-2 и 9), стромелизины (например, ММП-3 и 10), матрилизины (ММП-7, ММП-26), и ММП мембранного типа [46, 47]. Активация ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (ТИМП), которые соединяются с цинк-связывающими участками активных ММП в эквимолярном соотношении, образуя прочные комплексы как с активными формами ММП, так и с их секретируемыми проферментами и регулируя посредством этого их активность [43]. Семейство ТИМП состоит из четырех структурно родственных белков, три из которых — ТИМП-1, 2 и 4 — секретируются в растворимой форме, а один — ТИМП-3 — связан с ВКМ. ТИМП индуцируют изменения морфологии клетки, стимулируют рост некоторых типов клеток, участвуют в стероидогенезе и в развитии герминогенных клеток обоих полов. По своей структуре ТИМП высокоспецифичны к активному связывающему участку ММП (по принципу ключ—замок) и ингибируют весь спектр ММП.

Роль ММП в прогрессии и метастазировании опухолей впервые была определена Liotta с соавторами в начале 1980-х годов, когда был обнаружен протеолиз коллагена IV типа в процессе инвазии и метастазирования меланомы кожи и стало ясно, что он обусловлен, главным образом, протеолитической активностью ММП-2 и/или ММП-9 [37]. Первоначально предполагалось, что опухолевые клетки самостоятельно вырабатывают ММП, а стромальные клетки индуцируют секрецию ММП опухолями. Позднее была сформулирована концепция о том, что стромальные клетки сами также могут экспрессировать ММП, а последующий анализ методом гибридиза-

ции *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют ММП даже чаще, чем опухолевые [23, 34]. Выделение многих ММП клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки, является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако существуют исключения, например, матрилизин (ММП-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли, а несмотря на то, что мРНК ММП-2 продуцируется преимущественно стромальными клетками, сам фермент секретируется и активируется на границе опухолевой и нормальной ткани [16].

В экспериментальных исследованиях доказана взаимосвязь повышения экспрессии ММП опухолевыми и/или стромальными клетками с прогрессией, метастазированием и ангиогенезом [17, 41]. Для многих ММП и ТИМП продемонстрировано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза, причем активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы. В связи с этим различные представители семейства ММП рассматриваются в настоящее время в качестве возможных биологических маркеров прогноза и лекарственной чувствительности злокачественных опухолей, в частности, рака толстой кишки (РТК) [6, 13–15, 27–30, 49], а использование природных и синтетических ингибиторов ММП считается перспективным подходом к противоопухолевой терапии [41, 49].

В некоторых исследованиях показано также, что повышение уровня ММП в сыворотке/плазме крови онкологических больных коррелирует с активностью метастатического процесса и может рассматриваться как фактор неблагоприятного прогноза [20, 42]. В то же время, известно, что растворимые ММП в периферической крови находятся, в основном, в форме проферментов или в комплексе с природными ингибиторами, такими, как ТИМП или $\alpha 2$ -макроглобулин [9], поэтому повышенная экспрессия ММП часто сопровождается увеличением экспрессии соответствующих ТИМП [33], а функциональное значение циркулирующих в периферической крови ММП в прогрессии опухоли до конца не ясно.

Другой важнейшей системой, участвующей в регуляции инвазии и метастазирования, является протеолитический каскад активации плазминогена, играющий по отношению к системе ММП роль вышележащего эффектора [10]. В многоступенчатой цепочке протеаз, ведущей к разрушению внеклеточного матрикса, ключевую роль играет активатор плазминогена урокиназного типа (uPA). Важную роль играет также находящийся на поверхности клеток рецептор uPA, поскольку при связывании с ним способность uPA активировать плазминоген увеличивается. В целом, процесс образования плазмина представляет собой циклическую амплификацию, регулируемую по механизму обратной связи (рис. 2). Помимо uPA в нем участвует также активатор тканевого типа (tPA), однако, его роль при развитии опухолей, по-видимому, противоположна и сводится к разрушению опухолевых клеток и защите окружающих тканей. Активность uPA и tPA подавляется двумя белковыми ингибиторами, принадлежащими к семейству серпинов, — PAI-1 и PAI-2. Считается, что при опухолевом росте они также играют разную роль: PAI-1 защищает опухолевые клетки от саморазрушения, а

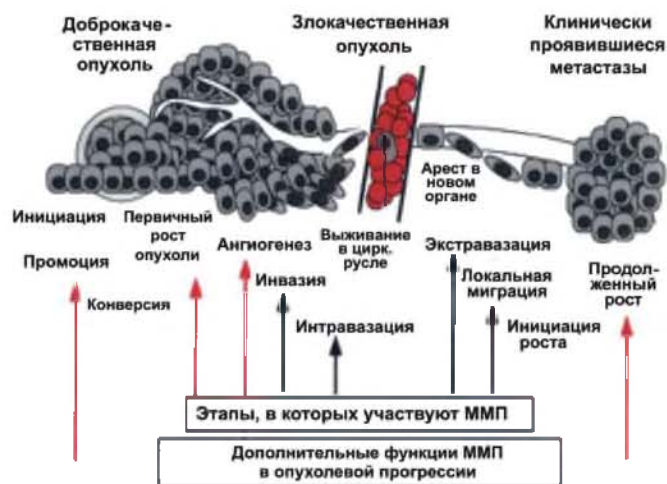


Рис. 1. Роль матриксных металлопротеиназ в опухолевой прогрессии [41]

PAI-2 тормозит протеолитические процессы во внеклеточном матриксе.

Наиболее подробно и успешно исследована роль компонентов системы активации плазминогена в клиническом течении рака молочной железы (РМЖ). В репрезентативных и многочисленных исследованиях продемонстрирована высокая прогностическая значимость uPA и PAI-1 при РМЖ: риск рецидивирования или метастазирования, даже при ранних стадиях заболевания, возрастает в 1,5–3 раза, если уровень этих белков превышает определенные пороговые значения [18]. Многофакторный анализ свидетельствует о том, что они являются независимыми факторами прогноза, причем уже имеется доказательная база I уровня: это проспективное рандомизированное кооперированное исследование, включавшее около 600 больных ранними стадиями РМЖ [32] и объединенный многофакторный анализ данных 18 исследовательских групп, включавший в целом 8377 больных [38]. В связи с этим, определение uPA и PAI-1 у больных ранними стадиями РМЖ уже могло бы быть рекомендовано для выявления подгрупп с повышенным риском рецидивирования и метастазирования, требующих более интенсивного лечения и/или наблюдения. Тем не менее, в настоящее время

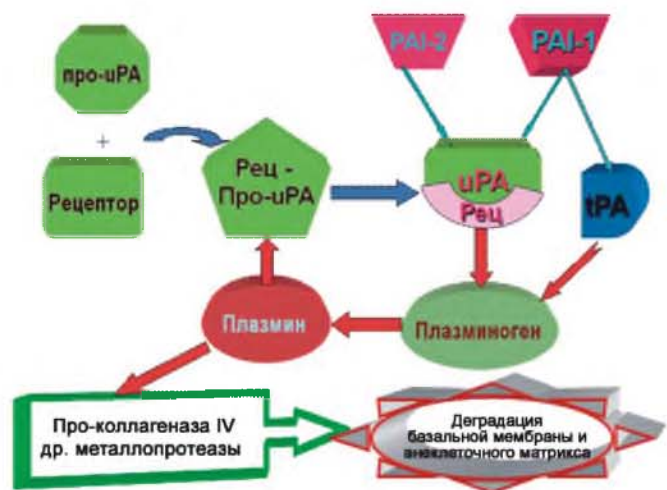


Рис. 2. Основные компоненты протеолитического каскада активации плазминогена

проводится кооперированное многоцентровое исследование «NNBC 3-Europe» [44]. В него планируется вовлечь около 6000 пациенток, и по его результатам будет сделан окончательный вывод о целесообразности включения uPA и/или PAI-1 в схему обязательного обследования первичных больных РМЖ без метастазов в лимфатических узлах.

В некоторых клиничко-лабораторных исследованиях, выполненных преимущественно иммуногистохимическим методом, продемонстрирована экспрессия uPA и PAI-1 в клетках РТК [11, 22, 25, 35], а также присутствие растворимого рецептора uPA в сыворотке крови этих пациентов [21, 26]. Показано, что uPA участвует в формировании сети новых сосудов в опухолях толстой кишки [48]. Имеются также указания на то, что наличие положительного окрашивания или высокая концентрация PAI-1 или uPA при количественном определении являются факторами неблагоприятного прогноза [10, 25, 36, 40]. В одной из ранних работ показано [45], что наиболее значимым прогностическим фактором при РТК является отношение концентраций uPA в опухоли к концентрации tPA в окружающей слизистой толстой кишки.

Повышение экспрессии компонентов системы активации пламиногена, в большей или меньшей степени взаимосвязанное с клиническими особенностями заболевания, отмечено и при некоторых других опухолях [12, 18]. Таким образом, являясь биологически значимыми факторами прогноза при различных новообразованиях, компоненты системы активации пламиногена могут стать мишенями для молекулярно направленных антиметастатических препаратов [31].

Клиническое значение определения компонентов системы активации пламиногена при раке толстой кишки

В 2001—2002 гг. мы определили иммуноферментным методом содержание uPA, PAI-1 и tPA в опухолях и двух разноудаленных участках гистологически неизменной слизистой толстой кишки у 80 больных РТК, которым проводили обследование и лечение в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, и проанализировали взаимосвязь этих показателей с клиничко-морфологическими особенностями заболевания [3, 4]. Исследование проводили проспективно, поэтому оценка роли изученных маркеров в прогнозе заболевания в то время была невозможна, однако в настоящее время большинство обследованных пациентов прослежено на протяжении более 10 лет [5]. Рак прямой кишки был диагностирован у 37 больных, рак ободочной кишки — у 30 больных. У двух больных

была I стадия, у четырех больных — II, у 47 чел. — III и у 18 чел. — IV стадия заболевания. Все больные с I—III стадиями заболевания были оперированы в радикальном объеме, больным с IV стадией выполнены преимущественно циторедуктивные операции. Материал для исследования брали во время операции. Для определения концентрации изучаемых компонентов в цитозолях тканей использовали иммуноферментный метод «сэндвичевого» типа на основе четырех антител, разработанный в лаборатории эндокринологии университета г. Наймеген (Нидерланды) [24].

Во всех исследованных образцах РТК обнаружены все три компонента системы активации пламиногена, концентрации которых варьировали в достаточно широких пределах. Концентрации uPA и PAI-1 в образцах опухоли были достоверно выше, чем в непораженной слизистой толстой кишки, а для tPA наблюдали противоположное соотношение (табл. 1). Отмечена высокодостоверная положительная корреляционная взаимосвязь между концентрациями tPA в опухоли и неизменной слизистой (R=0,77 для расстояния 3 см и R=0,86 для расстояния 10 см). Концентрации uPA и PAI-1 в опухоли не коррелировали с уровнем соответствующих белков в окружающей слизистой толстой кишки, однако выявлена слабая, но достоверная положительная взаимосвязь между уровнями uPA и PAI-1 в опухоли (R=0,39) и в неизменной слизистой (R=0,39 на расстоянии 3 см от опухоли, и R=0,64 — на расстоянии 10 см). Эти закономерности свидетельствуют о том, что усиление экспрессии uPA и PAI-1 в опухоли взаимосвязано, но не зависит от их исходного уровня в слизистой толстой кишки, в то время как экспрессия tPA в опухоли, хотя и понижена, но напрямую связана с базальным содержанием этого фермента в слизистой толстой кишки конкретного больного. В целом, можно отметить, что в ткани РТК наблюдается существенное и координированное увеличение концентрации uPA и PAI-1 по сравнению с нормальной слизистой толстой кишки.

Детальный анализ взаимосвязи содержания исследованных маркеров в опухолях и неизменной слизистой толстой кишки с основными клиничко-морфологическими особенностями РТК показал [21], что достоверных различий содержания активаторов пламиногена и PAI-1 в зависимости от локализации опухоли в прямой или ободочной кишке нет. Не было выявлено и достоверной взаимосвязи внутриопухолевых концентраций uPA и PAI-1 со стадией заболевания. Значимого статистического анализа взаимосвязи изучаемых маркеров со степенью дифференцировки РТК провести не удалось, поскольку у

Таблица 1

Содержание активаторов пламиногена урокиназного и тканевого типов и ингибитора PAI-1 в цитозолях опухолей и гистологически неизменной слизистой больных раком толстой кишки

Исследованная ткань	Концентрация (нг/мг белка). Медиана, разброс		
	uPA	tPA	PAI-1
Рак толстой кишки	1,38* 0,17—8,00	1,27* 0,14—20,2	2,00* 0,05—12,54
Слизистая на расстоянии 3 см от края опухоли	0,25 0,00—4,00	1,94 0,40—32,4	0,80 0,00—3,43
Слизистая на расстоянии 10 см от края опухоли	0,23 0,00—4,00	2,11 0,25—27,2	0,63 0,00—4,00

Примечание. * — $p < 0,001$ по сравнению с неизменной слизистой

80% обследованных больных опухоли были расценены как умеренно дифференцированные.

Таким образом, содержание активаторов плазминогена и их ингибитора I типа в опухолях и окружающей неизмененной слизистой толстой кишки не зависело от ключевых клинико-морфологических особенностей РТК, что не исключало их потенциальной роли в качестве независимых факторов прогноза выживаемости больных. Для проверки этой гипотезы были проанализированы результаты более чем 10-летнего наблюдения за обследованными пациентами с учетом концентрации изучаемых белков в опухоли.

Показатель 5-летней общей выживаемости в общей группе пациентов составил 56%, 10-летней — 49% (медиана выживаемости — 107 мес). В качестве пороговых значений рассматривали по два уровня для каждого маркера: показатель медианы и показатель верхнего квартиля концентрации в опухоли: для uPA эти величины составили, соответственно, 1,38 и 2,91 нг/мг белка, для PAI-1 — 2,0 и 3,17 нг/мг белка, для tPA — 1,27 и 1,93 нг/мг белка. В целом по группе достоверного влияния на выживаемость пациентов ни для одного из исследуемых маркеров не обнаружено. Однако выявлена выраженная тенденция к улучшению выживаемости пациентов с уровнем PAI-1 в опухоли ниже 3,17 нг/мг белка: 10-летняя выживаемость в этой группе составила 55%, а у пациентов с более высоким уровнем маркера — 27% (p=0,065).

В прослеженной группе было всего двое пациентов с I стадией заболевания и 4 чел. — со II, все они оставались живы в течение всего периода наблюдения и в анализ выживаемости не включены. Показатель 5-летней выживаемости больных при III стадии РТК составил 65%, 10-летний — 52% (медиана не достигнута). У больных с IV стадией РТК как 5-летняя, так и 10-летняя выживаемости составили 30%, медиана — 25 мес. В дальнейшем мы отдельно проанализировали взаимосвязь изучаемых показателей с выживаемостью больных при III и IV стадиях РТК. Как показано в табл. 2, достоверное влияние на выживаемость больных РТК с III стадией оказывал только уровень PAI-1 в опухоли: при содержании этого маркера, равном или выше верхнего квартиля (3,17 нг/мг белка), 10-летняя выживаемость пациентов была более чем вдвое меньше по сравнению с пациентами с меньшим уровнем PAI-1. Медиана выживаемости больных в III стадии с уровнем PAI-1 $\geq 3,17$ нг/мг белка составила всего 63 мес., тогда как во всех остальных подгруппах она либо не была достигнута за весь период наблюдения, либо превышала

100 мес. Выживаемость больных РТК в IV стадии достоверно не зависела от уровней экспрессии изученных компонентов системы активации плазминогена в опухоли.

Дополнительно была проанализирована выживаемость пациентов с использованием в качестве пороговых значений уровней маркеров, соответствующих верхней границе нормы (95% показателей неизмененной слизистой) для uPA и PAI-1 (в обоих случаях — 4,0 нг/мг белка) и нижней границе нормы (нижние 5% показателей неизмененной слизистой) для tPA — 0,38 нг/мг белка. Достоверных различий в зависимости от уровней uPA и tPA и в этом случае выявлено не было, а для PAI-1 выживаемость больных с высоким и низким уровнем маркера в опухоли различалась еще больше, чем при пороговом значении 3,17 нг/мг белка: 10-летняя выживаемость в подгруппе с низким уровнем PAI-1 составила 63%, а в подгруппе с высоким содержанием маркера — 12%, медиана — 42 мес. (рис. 3; p=0,004). При IV стадии РТК достоверных различий и при этом пороговом уровне не обнаружено.

Поскольку в литературе представлены данные о том, что определенное влияние на выживаемость больных РТК могут оказывать не только уровни компонентов системы активации плазминогена в опухоли, но и их уровень в окружающей неизмененной слизистой [12] или соотношение различных показателей в опухоли и слизистой [19], мы провели соответствующий анализ, используя в качестве пороговых значений медианные уровни соответствующих белков в неизмененной слизистой, которые существенно не различались в образцах, взятых на различном расстоянии от опухоли (табл. 1). Достоверного влияния на выживаемость ни для одного из проанализированных параметров не обнаружено, однако как в общей группе пациентов, так и у больных РТК в III стадии выявлена выраженная тенденция к ухудшению выживаемости при низком (менее 0,24 нг/мг белка) уровне uPA в неизмененной слизистой (p=0,099 и 0,08 соответственно). Аналогичная закономерность продемонстрирована в работе F.D. Vegum с соавторами [12]. Соотношение уровней экспрессии uPA и tPA в самой опухоли, а также в опухоли и неизмененной слизистой не оказывало влияния на выживаемость обследованной нами группы больных РТК.

При многофакторном анализе, включавшем стадию заболевания, гистологическое строение (степень дифференцировки) и локализацию опухоли, а также все исследованные биохимические показатели, независимое прогностическое значение имели только стадия РТК и степень дифференцировки опухоли.

Таблица 2

Показатели общей выживаемости больных раком толстой кишки III стадии в зависимости от содержания компонентов системы активации плазминогена в опухоли

Группа	Число больных	Число умерших	Макс. срок наблюдения, мес.	5-летняя выживаемость, %	10-летняя выживаемость, %	Медиана выживаемости, мес.	p
uPA <2,91 нг/мг белка	26	12	128	56	51	Н/д*	0,40
uPA $\geq 2,91$ нг/мг белка	13	6	134	76	46	105	
PAI-1 <3,17 нг/мг белка	27	9	131	68	62	Н/д	0,031
PAI-1 $\geq 3,17$ нг/мг белка	12	9	134	50	25	63	
tPA <1,93 нг/мг белка	34	15	134	63	53	Н/д	0,94
tPA $\geq 1,93$ нг/мг белка	7	3	130	72	54	Н/д	

Примечание. * Н/д — не достигнута

Клиническое значение определения матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки

В 2005 г. нами было начато новое исследование, целью которого была сравнительная оценка содержания различных ММП и ТИМП в опухолях, окружающей гистологически неизменной ткани, плазме или сыворотке крови больных различными онкологическими заболеваниями в зависимости от их клинико-морфологических особенностей для выявления наиболее перспективных прогностических и диагностических биологических маркеров. В частности, обследовали 99 больных РТК, прооперированных в отделении проктологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН в 2005—2008 гг. В этой группе рак прямой кишки — у 64 больных, рак ободочной кишки — у 35, у 64 больных была I, у 38 чел. — II, у 27 чел. — III и у 28 чел. — IV стадия заболевания. Стандартными наборами для прямого иммуноферментного анализа серии Quantikine (R&D Systems, США) определено содержание ММП-2, 7, 9 и ТИМП-1 и 2 в экстрактах опухолей и участков гистологически неизменной слизистой толстой кишки, а также в плазме крови, полученной до начала лечения и через 5—27 дней после операции [1, 2, 7, 8].

Измеримые количества изученных ММП и их ингибиторов обнаружены во всех исследованных образцах рака и гистологически неизменной слизистой толстой кишки. Содержание всех исследованных маркеров высоко достоверно повышено в опухолях по сравнению с неизменной слизистой: ММП-2 у 90% больных ($p < 0,00001$), ММП-7 — у 88% ($p < 0,00001$), ММП-9 — у 83% ($p < 0,001$), ТИМП-1 — у 92% ($p < 0,00001$) и ТИМП-2 — у 73% ($p < 0,05$). Уровень ММП-2 в ткани РТК достоверно повышен и по сравнению с доброкачественными полипами ($p < 0,05$). В то же время уровни ММП-7 и ТИМП-1 в полипах были достоверно выше, чем в слизистой ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно) и не отличались от показателей злокачественных опухолей.

Содержание ММП-7 в плазме крови больных РТК до хирургического вмешательства достоверно выше ($p < 0,001$), а содержание ТИМП-1 достоверно ниже ($p < 0,0001$), чем соответствующие показатели в контрольной группе (табл. 3). Уровни других ММП и ТИМП в плазме крови больных РТК достоверно не отличались от контроля. Таким образом, только ММП-7 можно рассматривать в качестве потенциального диагностического маркера РТК, однако при 95% специфичности (пороговый уровень — 6,9 нг/мл) его чувствительность составила

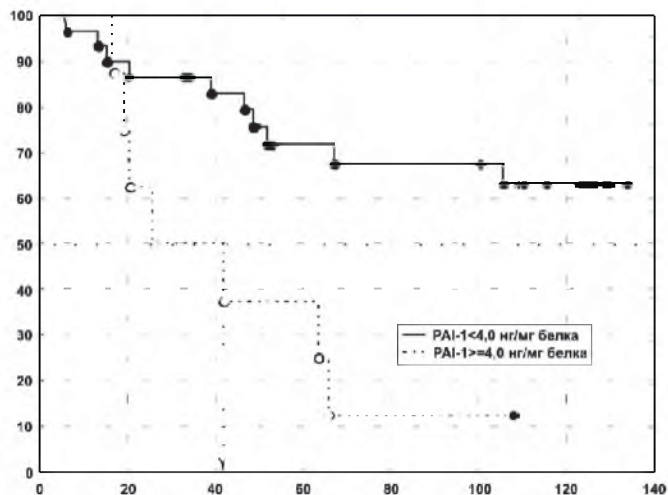


Рис. 3. Общая выживаемость больных РТК III стадии в зависимости от уровня PAI-1 в опухоли. По оси абсцисс — время после операции (месяцы); по оси ординат — кумулятивная общая выживаемость (%). В качестве порогового значения использована величина верхней границы нормы. Стрелка указывает величину медианы выживаемости

всего 10%. В то же время, если в качестве уровня специфичности принять 70%, то диагностическая чувствительность ММП-7 по отношению к здоровым людям составит 71%, что является вполне приемлемым соотношением для дальнейшего изучения роли этого маркера в диагностике и мониторинге РТК.

После удаления первичной опухоли отмечены разнонаправленные изменения уровней исследованных маркеров в плазме крови отдельных больных, однако при оценке группы в целом отмечена нормализация (повышение) уровня ТИМП-1 ($p < 0,001$). Содержание ММП-7 еще более возрастало, свидетельствуя о неопуховом происхождении, по крайней мере, части циркулирующего белка и несколько снижая потенциальную значимость ММП-7 как серологического маркера РТК (табл. 1). Не сильная, но достоверная положительная корреляция между внутриопуховой и плазматической концентрацией выявлена только для ММП-9 ($R = 0,38$; $p < 0,0001$), что также свидетельствует о различных источниках ММП, попадающих в циркуляторное русло.

Для того, чтобы оценить клиническое значение исследования уровня ММП и ТИМП в опухолях и периферической крови больных РТК, мы вначале проанализировали взаимосвязь этих показателей с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания, име-

Таблица 3

Содержание (нг/мл) ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в плазме крови больных колоректальным раком и группы здоровых людей*

Группа пациентов	n	ММП-2	ММП-7	ММП-9	ТИМП-1	ТИМП-2
Здоровые люди	15	281	1,1	277	322	74,5
		255—326	0,0—2,3	153—366	267—426	44,6—101
Плазма больных до операции	99	180	2,7 ^{1,2}	205	244 ^{1,2}	52,1
		144—228	1,7—4,0	114—298	142—347	39,1—68,8
Плазма больных после операции	90	220	3,9 ¹	202	330	58,1
		177—263	2,7—5,4	127—283	225—449	40,2—74,8

Примечание. * Представлены медианы и квартили; ¹ — $p < 0,01$ по сравнению с группой контроля; ² — $p < 0,001$ по сравнению с уровнем маркера после операции

ощими значение для его прогноза: стадией, глубиной инвазии, наличием лимфогенного или/и гематогенного метастазирования, локализацией и степенью дифференцировки опухоли. Выраженной взаимосвязи уровней исследуемых маркеров в опухолях и гистологически неизменной слизистой больших первичным РТК с клинико-морфологическими особенностями заболевания не выявлено (данные не представлены). В плазме крови отмечено достоверно более низкое содержание ММП-9 и ТИМП-1 у пациентов с метастазами в лимфатических узлах по сравнению с больными без лимфогенных метастазов, а также увеличение уровней ММП-7 и ТИМП-1 при наличии отдаленных гематогенных метастазов (табл. 4). Взаимосвязи с другими клинико-морфологическими факторами, включая глубину инвазии опухоли и стадию РТК, не обнаружено.

Так же, как и при исследовании компонентов системы активации плазминогена, отсутствие четкой взаимосвязи уровней исследованных ММП и ТИМП в опухолях с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками РТК не исключало их потенциальной роли в качестве независимых факторов прогноза выживаемости больных. Перспективными маркерами могли стать и уровни этих маркеров в периферической крови. Для проверки этой гипотезы о прогностической значимости исследованных маркеров мы проанализировали результаты 5-летнего наблюдения за обследованными пациентами с учетом содержания изучаемых белков в опухоли и плазме крови. Всего за это время умерло 24 из 99 больных, 5-летняя общая выживаемость составила 76,8%, медиана выживаемости достигнута не была. Для 54 пациентов удалось получить информацию о наличии или отсутствии рецидива. Всего было зарегистрировано 13 рецидивов (5-летняя кумулятивная безрецидивная выживаемость 70%), что было недостаточным для дальнейшего статистического анализа безрецидивной выживаемости в большинстве подгрупп.

Учитывая результаты анализа прогностической значимости компонентов системы активации плазминогена, в качестве дискриминационных уровней для оценки влияния ММП/ТИМП на общую выживаемость пациентов были выбраны показатели верхних квартилей исследованной выборки. Оказалось, что уровень экспрессии данных маркеров в опухоли (пороговые значения: ММП-2 — 54,4; ММП-7 — 7,8; ММП-9 — 169; ТИМП-1 — 169 нг/мл

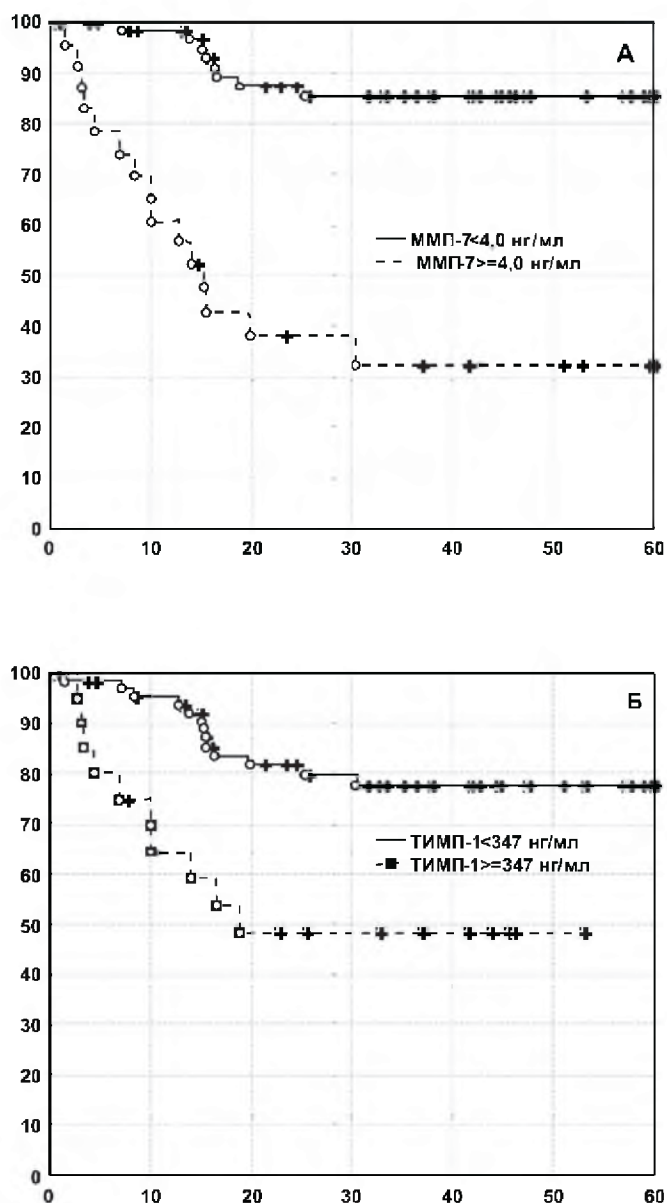


Рис. 4. Выживаемость больных раком толстой кишки в зависимости от уровня ММП-7 (А) и ТИМП-1 (Б) в плазме крови. По оси абсцисс — время после операции (месяцы); по оси ординат — кумулятивная общая выживаемость (%)

Таблица 4

Содержание ММП-2, ММП-7 и ММП-9 в плазме крови больных раком толстой кишки в зависимости от наличия лимфогенных или гематогенных метастазов*

Маркер (нг/мл)	Группа пациентов			
	T ₁₋₄ N ₀ M ₀ (n=41)	T ₁₋₄ N ₁₋₃ M ₀ (n=24)	T ₁₋₄ N ₀₋₃ M ₀ (n=58)	T ₁₋₄ N ₀₋₃ M ₁ (n=28)
ММП-2	191 144–236	188 156–227	189 145–233	171 133–202
ММП-7	2,3 1,4–3,3	2,9 1,7–3,4	2,6 ³ 1,5–3,4	4,6 ³ 2,3–7,1
ММП-9	225 ¹ 148–368	127 ¹ 64,3–197,0	203,0 112–295	234 131–344
ТИМП-1	259 ² 171–347	150 ² 118–212	193 ⁴ 142–319	279 ⁴ 164–429
ТИМП-2	55,9 34,8–71,5	54,5 41,9–70,6	55,0 41,9–71,3	45,4 34,4–67,6

Примечание. * Представлены медианы и квартили; p¹<0,0001; p²<0,0001; p³<0,001; p⁴<0,05

белка) не влияет на выживаемость в общей группе пациентов, однако высоко достоверное влияние на выживаемость больных РТК оказывали показатели ММП-7 (рис. 4А; $p=0,00001$) и ТИМП-1 (рис. 4Б; $p=0,009$) в плазме крови, взятой до операции. При этом высокие уровни обоих маркеров являются факторами неблагоприятного прогноза: при содержании ММП-7, равном или выше 4,0 нг/мл, 5-летняя общая выживаемость пациентов составила 32,6% (медиана — 15 мес.), а при более низком уровне этого маркера — 85,8%; для ТИМП-1 соответствующие показатели в подгруппах с высоким и низким уровнем маркера (пороговое значение — 347 нг/мл) составили 48,5% (медиана — 18,3 мес.) и 77,6%. Таким образом, при анализе всей группы пациентов без учета их клинико-морфологических особенностей наиболее значимым прогностическим фактором оказался предоперационный уровень ММП-7 в плазме крови.

Далее мы проанализировали, каким образом концентрация ММП и ТИМП в плазме крови и опухоли влияет на выживаемость в группах пациентов с различной распространенностью опухолевого процесса:

- 1-я группа — пациенты без метастазов ($T_{1-4}N_0M_0$; 41 чел.);
- 2-я группа — больные с метастазами только в лимфатических узлах ($T_{1-4}N_+M_0$; 23 чел.);
- 3-я группа — больные с диссеминированным процессом ($T_{1-4}N_{0-3}M_+$; 23 чел.).

В группе 1 общая 5-летняя выживаемость пациентов составила 91%. При исследовании взаимосвязи с маркерами достоверные различия выявлены только для подгрупп с различным уровнем ММП-7 в плазме крови, причем кумулятивная 5-летняя выживаемость больных с низким содержанием ММП-7 составила 100%, а выживаемость пациентов с высоким уровнем маркера — всего 60% ($p=0,0003$). В этой подгруппе удалось продемонстрировать также связь уровня ММП-7 в плазме крови с безрецидивной выживаемостью: в подгруппе с уровнем маркера менее 4,0 нг/мл она составила 75%, а в подгруппе с высоким уровнем ММП-7 — всего 40% с медианой 15 мес.

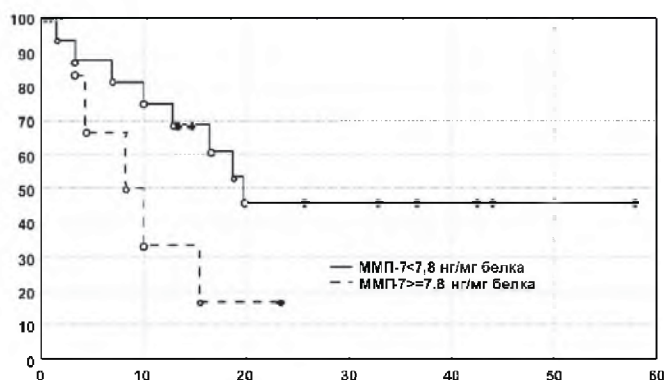


Рис. 5. Выживаемость больных диссеминированным раком толстой кишки в зависимости от уровня ММП-7 в опухоли. По оси абсцисс — время после операции (месяцы); по оси ординат — кумулятивная общая выживаемость (%)

В группе 2 (общая выживаемость — 74%) ни один из маркеров не оказывал значимого влияния на выживаемость. В то же время выживаемость больных с диссеминированным РТК зависела не только от уровня ММП-7 в плазме крови, но и от содержания этой протеазы в опухоли. В подгруппе с низким содержанием ММП-7 в опухоли (менее 7,8 нг/мг белка) медиана выживаемости составила 19,6 мес., а при уровне ММП-7 выше этого значения — всего 9,2 мес. (рис. 5; $p=0,03$). Все пациенты с высокой концентрацией ММП-7 в плазме крови умерли или были из наблюдения в течение первых двух лет после циторедуктивной операции и их кумулятивная 2-летняя выживаемость составила всего 12% (медиана — 8 мес.), а выживаемость пациентов с низкой концентрацией ММП-7 в плазме составила 65% ($p=0,007$) и приближалась к показателям радикально оперированных больных без отдаленных метастазов. У больных диссеминированным РТК проявилось также прогностическое значение содержания ТИМП-1 в плазме крови: при низком уровне маркера медиана выживаемости не была достигнута, а при высоком она составила всего 10 мес., 2-летняя выживаемость соот-

Таблица 5

Результаты многофакторного анализа 5-летней выживаемости 99 больных раком толстой кишки с использованием регрессионной модели Кокса

Параметр	Beta	Стандартная ошибка	t	p
Стадия	-0,008	0,01	-0,69	0,49
T	-0,49	0,47	-1,05	0,29
N	1,02	0,83	1,22	0,22
M	1,39	0,71	1,97	0,05
Степень дифференцировки опухоли	0,004	0,04	0,09	0,93
Локализация опухоли	1,10	0,72	1,53	0,13
ММП-7 в опухоли	0,65	0,57	1,14	0,25
ММП-7 в норме	-0,07	0,69	-0,11	0,91
ММП-7 в плазме	1,50	0,67	2,24	0,02
ММП-9 в опухоли	-0,75	0,68	-1,11	0,27
ММП-9 в норме	0,92	0,76	1,22	0,22
ММП-9 в плазме	-0,39	0,82	-0,47	0,64
ТИМП-1 в опухоли	-0,18	0,64	-0,28	0,78
ТИМП-1 в норме	0,34	0,69	0,50	0,62
ТИМП-1 в плазме	1,58	0,58	2,73	0,006

ветственно 57 и 11% ($p=0,01$). В целом 5-летняя выживаемость обследованных больных диссеминированным раком составила 37%, медиана — 17 мес.

При многофакторном анализе, включавшем такие факторы, как стадия заболевания, локализация, гистологическое строение и степень дифференцировки опухоли, глубина ее инвазии, наличие лимфогенных или отдаленных метастазов, а также все исследованные биохимические показатели (табл. 5), уровни ММП-7 и ТИМП-1 в плазме крови оказались независимыми факторами прогноза общей выживаемости больных РТК наряду с показателем отдаленного метастазирования М.

Заключение

Анализ взаимосвязи содержания нескольких ключевых ММП и их тканевого ингибитора I типа в опухолях и плазме крови больных РТК, а также внутриопухолевого содержания основных компонентов системы активации плазминогена с выживаемостью больных РТК показал возможность использования некоторых из исследованных показателей для прогноза заболевания и корректировки тактики лечения пациентов. Так, продемонстрировано, что высокий уровень ММП-7 в плазме крови свидетельствует о неблагоприятном прогнозе РТК даже при отсутствии лимфогенных и отдаленных метастазов. Стало быть, такие больные требуют более тщательного наблюдения и, возможно, альтернативного лечения, несмотря на отсутствие клинических показаний. В то же время, низкий уровень ММП-7 как в плазме крови, так и в опухоли свидетельствует об относительно благоприятном прогнозе выживаемости больных с диссеминированным РТК. В целом, уровни ММП-7, а также ТИМП-1 в плазме крови являются независимыми факторами прогноза общей выживаемости больных РТК наряду с показателем отдаленного метастазирования. Значимым, но не независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных РТК оказалось и высокое содержание PAI-1 в опухоли, роль этого фактора наиболее выражена у больных III стадии. Таким образом, ассоциированные с опухолью протеолитические системы активации плазминогена и матриксных металлопротеиназ не только играют важную роль в формировании инвазивного и метастатического потенциала рака толстой кишки, но и оказывают существенное влияние на клиническое течение этого заболевания.

Список литературы

1. Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Матриксные металлопротеиназы 2, 3, 13 и их тканевой ингибитор 2-го типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки // Бюлл. экп. биол. мед. — 2008. — Т. 145 (3). — С. 337–341.
2. Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Щербачев А.М. et al. Матриксные металлопротеиназы 7 и 9 и их тканевые ингибиторы 1 и 4 типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки // Бюлл. экп. биол. мед. — 2007. — Т. 143 (3). — С. 438–441.
3. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е., Талаева Ш.Ж., Сандыбаев М.Н. Клиническая роль системы активации плазминогена в опухоли человека // Молекулярная медицина — 2007. — №1. — С. 4–8.
4. Герштейн Е.С., Пророков В.В., Голубченко О.В., Кушлинский Н.Е. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 при раке толстой кишки: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2002. №2. — С. 31–36.

5. Герштейн Е.С., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Прогностическое значение активаторов плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитора PAI-1 в опухолях больных раком толстой кишки: результаты 10-летнего наблюдения // Технологии живых систем. — 2012. — Т. 9 (3). — С. 42–48.

6. Делекторская В.В., Перевошиков А.Г., Головков Д.А., Кушлинский Н.Е. Прогностическая значимость экспрессии матриксных металлопротеиназ в аденокарциномах толстой кишки и их метастазах // Бюлл. экп. биол. мед. — 2007. — Т. 143 (4). — С. 434–438.

7. Короткова Е.А., Герштейн Е.С., Пророков В.В., Кушлинский Н.Е. Тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ I типа (ТИМП-1) при раке толстой кишки: взаимосвязь с клинико-морфологическими факторами // Вопросы онкологии. — 2009. — Т. 55 (2). — С. 171–176.

8. Короткова Е.А., Герштейн Е.С., Пророков В.В. Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных раком толстой кишки // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2012. — №10. — С. 41–46.

9. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities // J. Cell. Sci. — 2002. — Vol. 115 (Pt 19). — P. 3719–3727.

10. Baker E.A., Bergin F.G., Leaper D.J. Plasminogen activator system, vascular endothelial growth factor, and colorectal cancer progression // Mol. Pathol. — 2000. — Vol. 53 (6). — P. 307–312.

11. Baker E.A., Leaper D.J. The plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in colorectal cancer: relationship to tumour pathology // Eur. J. Cancer. — 2003. — Vol. 39 (7). — P. 981–988.

12. Begum F.D., Hogdall C.K., Kjaer S.K. et al. The prognostic value of plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in stage III ovarian cancer patients // Anticancer Res. — 2004. — Vol. 24 (3b). — P. 1981–1985.

13. Chan C.C., Menges M., Orzechowski H.D. et al. Increased matrix metalloproteinase 2 concentration and transcript expression in advanced colorectal carcinomas // Int. J. Colorectal Dis. — 2001. — Vol. 16 (3). — P. 133–140.

14. Collins H.M., Morris T.M., Watson S.A. Spectrum of matrix metalloproteinase expression in primary and metastatic colon cancer: relationship to the tissue inhibitors of metalloproteinases and membrane type-1-matrix metalloproteinase // Br. J. Cancer. — 2001. — Vol. 84 (12). — P. 1664–1670.

15. Damodharan U., Ganesan R., Radhakrishnan U.C. Expression of MMP2 and MMP9 (gelatinases A and B) in human colon cancer cells // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2011. — Vol. 165 (5–6). — P. 1245–1252.

16. Deryugina E.I., Quigley J.P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis // Cancer Metastasis Rev. — 2006. — Vol. 25 (1). — P. 9–34.

17. Deryugina E.I., Quigley J.P. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions // Biochim. Biophys. Acta. — 2010. — Vol. 1803 (1). — P. 103–120.

18. Duffy M.J., Duggan C. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer // Clin. Biochem. — 2004. — Vol. 37 (7). — P. 541–548.

19. Duffy M.J., McGowan P.M., Gallagher W.M. Cancer invasion and metastasis: changing views // J. Pathol. — 2008. — Vol. 214 (3). — P. 283–293.

20. Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression // Nat. Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2 (3). — P. 161–174.

21. Fernebro E., Madsen R.R., Ferno M. et al. Prognostic importance of the soluble plasminogen activator receptor, suPAR, in plasma from rectal cancer patients // Eur. J. Cancer. — 2001. — Vol. 37 (4). — P. 486–491.

22. Fujii T., Obara T., Tanno S. et al. Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 as a prognostic factor in human colorectal carcinomas // Hepatogastroenterology. — 1999. — Vol. 46 (28). — P. 2299–2308.

23. Furuya M., Ishikura H., Nemori R. et al. Clarification of the active gelatinolytic sites in human ovarian neoplasms using in situ zymography // Hum. Pathol. — 2001. — Vol. 32 (2). — P. 163–168.

24. Grebenshikov N., Geurts-Moespot A., De Witte H. et al. A sensitive and robust assay for urokinase and tissue-type plasminogen activators (uPA and tPA) and their inhibitor type I (PAI-1) in breast tumor cytosols // Int. J. Biol. Markers. — 1997. — Vol. 12 (1). — P. 6–14.

25. Herszenyi L., Farinati F., Cardin R. et al. Tumor marker utility and prognostic relevance of cathepsin B, cathepsin L, urokinase-type

plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor type-1, CEA and CA 19-9 in colorectal cancer // BMC Cancer. — 2008. — Vol. 8. — P. 194.

26. Herszenyi L., Istvan G., Cardin R. et al. Serum cathepsin B and plasma urokinase-type plasminogen activator levels in gastrointestinal tract cancers // Eur. J. Cancer Prev. — 2008. — Vol. 17 (5). — P. 438–445.

27. Higashiguchi T., Hotta T., Takifuji K. et al. Clinical impact of matrix metalloproteinase-7 mRNA expression in the invasive front and inner surface of tumor tissues in patients with colorectal cancer // Dis. Colon Rectum. — 2007. — Vol. 50 (10). — P. 1585–1593.

28. Hong S.W., Kang Y.K., Lee B. et al. Matrix metalloproteinase-2 and -7 expression in colorectal cancer // J. Korean. Soc. Coloproctol. — 2011. — Vol. 27 (3). — P. 133–139.

29. Hurst N.G., Stocken D.D., Wilson S. et al. Elevated serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) concentration predicts the presence of colorectal neoplasia in symptomatic patients // Br. J. Cancer. — 2007. — Vol. 97 (7). — P. 971–977.

30. Islekel H., Oktay G., Terzi C. et al. Matrix metalloproteinase-9, -3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables // Cell. Biochem. Funct. — 2007. — Vol. 25 (4). — P. 433–441.

31. Jacobsen B., Ploug M. The urokinase receptor and its structural homologue C4.4A in human cancer: expression, prognosis and pharmacological inhibition // Curr. Med. Chem. — 2008. — Vol. 15 (25). — P. 2559–2573.

32. Janicke F., Prechtel A., Thomssen C. et al. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 // J. Natl. Cancer Inst. — 2001. — Vol. 93 (12). — P. 913–920.

33. Jumper C., Cobos E., Lox C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment // Respir. Med. — 2004. — Vol. 98 (2). — P. 173–177.

34. Kamat A.A., Fletcher M., Gruman L.M. et al. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer // Clin. Cancer Res. — 2006. — Vol. 12 (6). — P. 1707–1714.

35. Kim T.D., Song K.S., Li G. et al. Activity and expression of urokinase-type plasminogen activator and matrix metalloproteinases in human colorectal cancer // BMC Cancer. — 2006. — Vol. 6. — P. 211.

36. Langenskiold M., Holmdahl L., Angenete E. et al. Differential prognostic impact of uPA and PAI-1 in colon and rectal cancer // Tumour Biol. — 2009. — Vol. 30 (4). — P. 210–220.

37. Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S. et al. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen // Nature. — 1980. — Vol. 284 (5751). — P. 67–68.

38. Look M.P., van Putten W.L., Duffy M.J. et al. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients // J. Natl. Cancer Inst. — 2002. — Vol. 94 (2). — P. 116–128.

39. Malemud C.J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview // Front Biosci. — 2006. — Vol. 11. — P. 1696–1701.

40. Minoo P., Baker K., Baumhoer D. et al. Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer // Hum. Pathol. — 2010. — Vol. 41 (1). — P. 70–78.

41. Nelson A.R., Fingleton B., Rothenberg M.L., Matrisian L.M. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications // J. Clin. Oncol. — 2000. — Vol. 18 (5). — P. 1135–1149.

42. Nikkola J., Vihinen P., Vuoristo M.S. et al. High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma // Clin. Cancer Res. — 2005. — Vol. 11 (14). — P. 5158–5166.

43. Ramnath N., Creaven P.J. Matrix metalloproteinase inhibitors // Curr. Oncol. Rep. — 2004. — Vol. 6 (2). — P. 96–102.

44. Schmidt M., Victor A., Bratzel D. et al. Long-term outcome prediction by clinicopathological risk classification algorithms in node-negative breast cancer—comparison between Adjuvant!, St Gallen, and a novel risk algorithm used in the prospective randomized Node-Negative-Breast Cancer-3 (NNBC-3) trial // Ann. Oncol. — 2009. — Vol. 20 (2). — P. 258–264.

45. Verspaget H.W., Sier C.F., Ganesh S. et al. Prognostic value of plasminogen activators and their inhibitors in colorectal cancer // Eur. J. Cancer. — 1995. — Vol. 31A (7–8). — P. 1105–1109.

46. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry // Circ. Res. — 2003. — Vol. 92 (8). — P. 827–839.

47. Westermarck J., Kahari V.M. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion // FASEB J. — 1999. — Vol. 13 (8). — P. 781–792.

48. Zlobec I., Holler S., Tornillo L. et al. Combined histomorphologic and immunohistochemical phenotype to predict the presence of vascular invasion in colon cancer // Dis. Colon Rectum. — 2009. — Vol. 52 (6). — P. 1114–1121.

49. Zucker S., Vacirca J. Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer // Cancer Metastasis Rev. — 2004. — Vol. 23 (1–2). — P. 101–117.

Послупила 13.03.2013

Matrix metalloproteinases and plasminogen activation system components in pathogenesis and clinical course of colorectal cancer

Kushlinskii N.E., Gershtein E.S.

Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center» of the Russian Academy of Medical Sciences, Kashirskoye shosse, 24, 115478, Moscow, Russian Federation. Fax: +7 (499)-324-63-54. E-mail: biochimia@yandex.ru

Herein we concisely review data on the role of tumor associated proteolytic systems in the realization of such important malignant tumor features as invasion and metastasizing. We also resume our own work on clinical value of plasminogen activation system components (uPA, tPA and PAI-1) and key matrix metalloproteinases (MMP 2, 7, 9) and their tissue inhibitors (TIMP) in colorectal cancer. Two groups of patients were monitored for 5 or 10 years. The levels of the designated proteins were measured in plasma and/or tumor by immunoenzymatic techniques. High tumor PAI-1 (>4,0 ng/mg protein) concentration was shown to be significant and independent marker of poor prognosis of 5 and 10-year overall survival in stage III patients. High preoperative plasma levels of MMP-7 and TIMP-1 (cut-offs — 4,0 and 347 ng/ml, respectively) were shown to be independent unfavorable prognostic factors, and univariate analysis revealed unfavorable prognostic value of high tumor MMP-7 content (>7,8 ng/mg protein) in patients with disseminated process. Thus, it was shown that tumor associated proteases not only play an important role in the formation of colorectal cancer invasive and metastatic potential, but also significantly affect clinical course of the disease.

Key words: urokinase type plasminogen activators (uPA), tissue type plasminogen activator (tPA), type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1), matrix metalloproteinase 2, 7, 9, tissue matrix metalloproteinase inhibitor 1, colorectal cancer