

ВЛИЯНИЕ MMP-9 НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

Франциянц Е. М., Каплиева И. В., Трепитаки Л. К., Сурикова Е. И., Бандовкина В. А., Нескубина И. В., Погорелова Ю. А., Черярина Н. Д., Котиева И. М., Шумарин К. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 344037, ул. 14 линия, 63, Ростовская обл., г. Ростов-на-Дону, Россия

Для корреспонденции: Черярина Наталья Дмитриевна, врач-лаборант ЛИПЗО ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ, e-mail: scalolas.92@yandex.ru

For correspondence: Cheryarina Natalia D., laboratory assistant at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, e-mail: scalolas.92@yandex.ru

Information about authors:

Frantsiyants E. M., <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Kaplieva I. V., <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>

Trepitaki L. K., <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>

Surikova E. I., <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>

Bandovkina V. A., <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

Neskubina I. V., <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Pogorelova Yu. A., <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Cheryarina N. D., <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>

Kotieva I. M., <https://orcid.org/0000-0003-0252-4708>

Shumarin K. A., <http://orcid.org/0000-0003-4362-9303>

РЕЗЮМЕ

MMP-9 глубоко вовлечена не только в инвазию и метастазирование, но и в ангиогенез различных опухолей, а также может влиять на микроокружение опухолей. Целью настоящего исследования явилось изучение уровней MMP-9 в ткани меланомы B16/F10 и карциномы лёгкого Льюиса при самостоятельном и сочетанном вариантах их роста. В качестве коморбидной патологии был выбран первичный иммунодефицит, моделью которого являются мыши Balb/c Nude. Работа выполнена на 24 самках, которые были разделены на группы по 6 особей в каждой: 1 – интактные, 2 – изолированный рост меланомы B16/F10, 3 – изолированный рост карциномы лёгкого Льюиса (LLC); 4 – сочетанный рост B16/F10 и LLC – первично-множественные злокачественные опухоли (ПМЗО). В гомогенатах ткани опухоли и ее перифокальной зоны у животных всех групп методом ИФА определяли содержание MMP-9. Выявлено, что при ПМЗО уровень MMP-9 в ткани опухоли B16/F10 был в 3,9 раза выше, чем в опухоли LLC. При ПМЗО уровень MMP-9 в ткани перифокальной зоны B16/F10 был в 1,9 раза выше, чем в перифокальной зоне LLC. При сочетанном варианте в ткани кожи, не затронутой злокачественным процессом, уровень MMP-9 был выше, чем показатель в интактной коже в среднем в 2,8 раза. При ПМЗО уровень MMP-9 в опухолевых образцах имел положительную корреляцию с объемами первичных узлов. Каким бы ни был уровень MMP-9 в ткани опухоли и ее перифокальной зоне, ясно, что она непосредственно участвует в развитии опухолевой болезни.

Ключевые слова: меланома B16/F10, карцинома лёгкого Льюиса, сочетанный вариант роста, MMP-9, эксперимент.

EFFECT OF MMP9 ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MULTIPLE PRIMARY TUMORS IN PRIMARY IMMUNODEFICIENCY

Frantsiyants E. M., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Surikova E. I., Bandovkina V. A., Neskubina I. V., Pogorelova Yu. A., Cheryarina N. D., Kotieva I. M., Shumarin K. A.

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

SUMMARY

MMP9 is deeply involved in invasion, metastasis and angiogenesis of various tumors, and can also affect the tumor microenvironment. The aim of this study was to analyze the MMP9 levels in tissues with independent and combined growth (MPT): B16/F10 melanoma and Lewis lung carcinoma. Primary immunodeficiency presented in a model of Balb/c Nude mice was chosen as a comorbid pathology. The study included 24 females divided into groups (n=6 each): 1 – intact animals, 2 – animals with B16/F10 melanoma, 3 – animals with Lewis lung carcinoma (LLC), 4 - animals with a combination of B16/F10 and LLC - multiple primary malignancies (MPMs). Levels of MMP9 were measured by ELISA in homogenates of tumor and perifocal tissues in all animals. In animals with MPT, levels of MMP9 in B16/F10 were 3.9 times higher than in LLC, and the levels in B16/F10 perifocal tissues were 1.9 times higher than in LLC

perifocal tissues. MMP9 in non-cancer tissues in animals with MPT 2.8 times exceeded the levels in intact animals. In animals with MPT, MMP9 in tumor samples positively correlated with the primary node volumes. Whatever the level of MMP9 in the tumor and perifocal tissues, it is clearly directly involved in cancer development.

Key words: B16/F10 melanoma, Lewis lung carcinoma, multiple primary tumors, MMP9, experiment.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) представляют собой цинк-зависимые эндопептидазы, которые могут участвовать в протеолизе и могут расщеплять несколько компонентов внеклеточного матрикса (ЕСМ) и молекулы, не относящиеся к ЕСМ [1; 2]. Недавние исследования показали, что помимо деградации различных белковых компонентов внеклеточного матрикса, некоторые ММП, такие как ММП-2, ММП-3, ММП-9 и ММП-14 могут индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход или связанные с ним процессы [3]. Среди них ММП-9, также известная как желатиназа В, является одной из ключевых протеаз для деградации ЕСМ и базальной мембраны и играет решающую роль в возникновении и развитии злокачественных опухолей, инвазии и метастазировании, а также ангиогенезе [4]. Она может регулировать структуру ЕСМ, разрезая и разрушая множество белков внеклеточного матрикса посредством гидролиза протеазой [5]. Кроме того, ММП-9 способна специфически разрезать внеклеточный домен на поверхности определенных клеточных белков, чтобы высвободить их из плазматической мембраны, а некоторые пептиды также могут расщепляться под действием ММП-9 вне клетки [6]. Базальная мембрана содержит коллаген, такой как коллаген IV типа, поэтому он может расщепляться ММП-9 [7]. Во время развития опухоли разрушение базальной мембраны часто является важным этапом для достижения инвазии и метастазирования. Следовательно, ММП-9 может воздействовать на процесс эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток и может быть незаменимой мишенью для лечения заболеваний. Например, исследования показали, что ММП-9 глубоко вовлечена в инвазию, метастазирование и ангиогенез различных опухолей и может опосредовать микроокружение опухоли [8; 9]. Вместе с тем, в исследовании [10] продемонстрированы ранее неизвестные эффекты ММП-9 на врожденный противоопухолевый иммунитет. Перенос аденовирусом встроенного человеческого гена ММП-9 вызвал дозозависимую массивную инфильтрацию нейтрофилов в ткань рака молочной железы, что привело к снижению роста опухоли и ангиогенезу эксплантатов рака молочной железы у голых мышей и иммунокомпетентных мышей с раком молочной железы. Когда нейтрофилы были истощены обработкой Ad, терапевтический эффект AdMMP-9 исчез.

Авторы продемонстрировали несколько механизмов, с помощью которых AdMMP-9 проявляет противоопухолевые свойства как на иммунодефицитных, так и на иммунокомпетентных мышинных моделях рака груди человека. Для выяснения роли ММП-9 в канцерогенезе кожи было исследовано влияние дефицита ММП-9 на мышинной модели рака кожи K14-HPV16 [11]. У мышей с нокаутом гена ММП-9 развивались неопластические поражения и плоскоклеточные карциномы в более поздние сроки, чем у мышей с гетерозиготой Mmp9 или мышей дикого типа. Хотя в присутствии ММП-9 развивалось большее количество опухолей, они имели менее агрессивный фенотип, что позволяет предположить, что ММП-9 может защищать от прогрессирования опухоли, а не способствовать её развитию. Анализ опухолей контрольных мышей показал, что ММП-9 преимущественно экспрессируется в строме опухоли тучными клетками, нейтрофилами и макрофагами. Понимание молекулярных механизмов этого сложного взаимодействия между злокачественными клетками и окружающей незлокачественной стромой представляет собой одну из основных проблем в исследованиях рака [12; 13; 14].

Первично-множественные злокачественные опухоли (ПМЗО) в настоящее время являются актуальной проблемой онкологии. ПМЗО представляют собой новые первичные опухоли с различным гистогенезом, которые можно легко проверить с помощью иммуногистохимического исследования. Механизмы возникновения ПМЗО и коморбидные заболевания, способствующие их развитию, до конца не изучены. Одним из факторов, способствующим развитию первично-множественных злокачественных опухолей может являться угнетение работы иммунной системы.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровней ММП-9 в ткани меланомы B16/F10 и карциномы лёгкого Льюиса при самостоятельном и сочетанном варианте их роста у мышей с первичным иммунодефицитом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве коморбидной патологии был выбран первичный иммунодефицит, моделью которого являются мыши Balb/c Nude. Работа выполнена на самках (n=24) массой 16-18 г., полученных из питомника лабораторных живот-

ных «Пушино» Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (Московская область). В работе использовали опухолевые штаммы мышины меланомы B16/F10 и карциномы Льюиса, полученные из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (г. Москва). Все животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС), с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол экспериментального исследования был одобрен Комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России от 01.09.2020, протокол этического комитета №21/99.

Животные были разделены на группы по 6 особей в каждой: 1 – интактные, 2 – изолированный рост меланомы B16/F10, 3 – изолированный рост опухоли Льюиса (LLC); 4 – сочетанный рост B16/F10 и LLC. Мышам 4 – основной группы последовательно проводили трансплантацию опухолевых клеток: под кожу спины чуть ниже угла правой лопатки вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:20, с другой стороны – чуть ниже угла левой лопатки подкожно вводили 0,5 мл опухолевой взвеси LLC, содержащей 0,5 млн. опухолевых клеток. В экспериментальных группах 2 и 3 – для роста опухолей в изолированном варианте, оба штамма трансплантировали разным животным в той же дозе и объёме, что и в группе с ПМЗО под кожу спины чуть ниже угла правой лопатки. На животных линии BALB/c, которые являются общепринятой контрольной моделью для мышей Balb/c Nude, используемые в эксперименте штаммы злокачественных опухолей, ни в самостоятельном, ни в сочетании вариантах не воспроизводились. Этот факт являлся доказательством роли первичного иммунодефицита в возникновении и развитии злокачественных новообразований.

Замеры опухолевого узла проводили в 3 взаимно перпендикулярных направлениях, произведение которых представляло собой объем опухолевого узла. Животных декапитировали. В гомогенатах ткани опухоли и ее перифокальной зоны (0,5 см от видимого края новообразования) у животных всех групп методом ИФА определяли содержание MMP-9 (eBioscience, США), на анализаторе Infiniti F50 TECAN (Австрия).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10.0. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Соответствие распределения нормальному оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Значимость различий между независимыми выборками оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью критерия Спирмена. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения уровня MMP-9 в различных тканях мышей-самок представлены в таблице 1. Установлено, что при самостоятельном варианте роста уровень MMP-9 в ткани опухоли B16/F10 не имел статистически значимых отличий от показателя в ткани опухоли LLC.

При ПМЗО уровень MMP-9 в ткани опухоли B16/F10 был 3,9 раза выше, чем в опухоли LLC (таблица 1). Интересно, что прослеживается явная корреляционная связь между объемом опухоли (таблица 2) и уровнем MMP-9 в ткани опухоли для меланомы B16/F10 и LLC при сочетании вариантах их роста $r = 0,83$, $p < 0,05$ и $r = 0,85$, $p < 0,05$ соответственно.

В ткани кожи, не затронутой злокачественным процессом, при самостоятельном варианте роста B16 и LLC уровень MMP-9 был в 4,1 раза и 2,4 раза соответственно выше, чем показатель в коже интактных мышей, а при сочетании вариантах – в среднем в 2,8 раза. При этом, уровень MMP-9 в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при самостоятельном варианте роста B16 был в 1,5 раза ($p < 0,05$) выше, чем при сочетании, в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при LLC значения не имели достоверных отличий.

В ткани перифокальной зоны при самостоятельном варианте роста B16 уровень MMP-9 был в 1,9 раза ($p < 0,05$) выше, чем в интактной ткани, но в 2,2 раза и 1,5 раза ($p < 0,05$) соответственно ниже, чем в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при самостоятельном и сочетании вариантах роста опухоли. В ткани перифокальной зоны при самостоятельном варианте роста LLC уровень MMP-9 был выше: в 5,5 раза, чем в интактной ткани, в 2,3 раза и 1,9 раза соответственно, чем в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при самостоятельном и сочетании вариантах роста опухоли. При этом уровень MMP-9 в перифокальной зоне опухоли при самостоятельном варианте роста B16 и LLC был выше, чем в ткани опухоли в 1,9 раза и 6,7 раза соответственно.

Таблица 1

Содержание MMP-9 в коже, опухоли и ее перифокальной зоне у самок мышей Balb/c Nude

показатель	кожа			изолированный рост опухоли		ПМЗО	
	интактная	при изолированном росте	при ПМЗО	опухоль	перифокальная зона	опухоль	перифокальная зона
MMP-9	4,8±0,5	B16/F10					
		19,5±2,1 ^{1,3}	13,4±1,3 ^{1,2}	4,8±0,6	9,0±1,0 ^{1,3}	6,7±0,5 ^{1,2,3}	4,1±0,6 ^{2,3}
		LLC					
		11,3±1,5 ¹	13,5±1,7 ¹	3,9±0,5	26,2±2,4 ¹	1,7±0,2 ^{1,2}	2,2±0,3 ^{1,2}

Примечание: ¹ – статистически значимо по отношению к показателю в интактной коже; ² – статистически значимо по отношению к показателю при одиночном варианте роста; ³ – статистически значимо по отношению к показателю в LLC

Таблица 2

Объем опухолей и продолжительность жизни мышей самок Balb/c Nude с ПМЗО

Показатели	B16/F10	LLC	ПМЗО	
			B16/F10	LLC
V опухолей на 22 сутки, см ³	3,90±1,96	4,74±1,08	6,89±1,94*	2,03±0,21+1
количество животных с метастазами	100%	-	30%	-
продолжительность жизни, сутки	26,00±0,58	28,67±0,33	22,67±0,88*,+	

Примечание: * – значимость отличий по сравнению с изолированным ростом меланомы, + – значимость отличий по сравнению с изолированным ростом карциномы Льюиса, 1 – значимость отличий карцинома Льюиса от меланомы в модели ПМЗО

В ткани перифокальной зоны при сочетанном варианте роста B16 уровень MMP-9 не имел достоверных отличий от показателя в интактной ткани, но был в 4,8 раза и 3,3 раза соответственно ниже, чем в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при самостоятельном и сочетанном варианте роста опухоли. В ткани перифокальной зоны при сочетанном варианте роста LLC уровень MMP-9 был ниже: в 2,2 раза, чем в интактной ткани, и в 5,1 раза и 6,1 раза соответственно, чем в ткани не затронутой злокачественным процессом кожи при самостоятельном и сочетанном варианте роста этой опухоли. При этом уровень MMP-9 в перифокальной зоне B16 при сочетанном варианте роста был ниже, чем в ткани опухоли в 1,6 раза ($p<0,05$) и не имел достоверных отличий при LLC.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании, прежде всего, обращало внимание, что уровень MMP-9 в ткани опухоли B16/F10 и LLC был ниже, чем в коже,

не затронутой злокачественным процессом, а при самостоятельном варианте роста опухолей – ниже, чем в перифокальной зоне. Это было удивительно, учитывая привычную роль металлопротеиназ.

Первоначальное представление о том, что MMP действуют как ферменты, способствующие росту опухоли и метастазированию, расчищая путь опухолевым клеткам для вторжения, в последнее десятилетие было поставлено под сомнение. Стало ясно, что MMP участвуют во многих стадиях прогрессирования и метастазирования опухоли и, следовательно, теперь считаются многогранными протеазами. Более того, недавние экспериментальные данные показывают, что некоторые члены семейства MMP ведут себя как ферменты, подавляющие опухоль, и поэтому должны рассматриваться как мишени в терапии рака. Сложность про-, противоопухолевых и метастатических функций MMP может частично объяснить, почему ингибиторы широ-

кого спектра действия не прошли клинические испытания III фазы [15].

Вместе с тем, нами показана значительная корреляция уровня MMP-9 с объемом опухолевых узлов при сочетанном варианте роста B16/F10 и LLC, что свидетельствует в пользу непосредственного участия этой металлопротеиназы в развитии опухолей. Хотя в работе [16] показано, что аденовирусная доставка MMP-9 после подкожной инъекции клеток MCF-7 голым мышам увеличивала активность MMP-9 *in vivo*, уменьшала рост опухоли, индуцировала экспрессию эндостатина и уменьшала плотность микрососудов. Сообщалось, что у мышей с дефицитом MMP-9 наблюдались пониженные уровни циркулирующего тумстатина и повышенный рост опухоли имплантированных клеток рака легкого Льюиса.

Интересные изменения уровня MMP-9 найдены в ткани перифокальных зон: при самостоятельном варианте роста опухолей уровень желатиназы значимо превышал показатели в ткани опухоли, а при сочетанном либо был ниже, как при B16, либо не имел достоверных отличий. Что касается меланомы B16, то уровень MMP-9 можно было бы связать с метастазированием: при самостоятельном варианте роста у 100% самок были метастазы в различные органы, а при сочетанном варианте только у 30% (таблица 2). Однако при LLC ни при одном из вариантов не обнаружено у животных метастазов. С другой стороны, возможно и участие воспалительных реакций в этой зоне, так как известно, что среда микроокружения опухоли сходна воспалительной реакции в заживающей ране, которая способствует ангиогенезу, обновлению внеклеточного матрикса (ЕСМ) и подвижности опухолевых клеток [12]. Последние технологические разработки заметно продвинули наше понимание MMP, как модуляторов микросреды опухоли. Помимо своей роли в обновлении ЕСМ и миграции раковых клеток, MMP регулируют сигнальные пути, которые контролируют воспаление или ангиогенез, и могут даже работать непротеолитическим образом.

Матричная металлопротеиназа участвует в процессах, которые происходят во время заживления кожных ран, таких как воспаление, ремоделирование матрикса и эпителизации. MMP-9, которая не экспрессируется кератиноцитами в физиологических условиях, индуцируется в передней части мигрирующего эпителиального слоя и прогрессивно распространяется дистально к мигрирующему фронту при заживлении ран кожи. Мыши с дефицитом экспрессии MMP-9 обнаруживают замедленную реэпителизацию, что позволяет предположить, что MMP-9 требу-

ется для достижения надлежащего заживления ран [17]. С другой стороны, исследования показали, что во время старения кожи отмечается повышенная экспрессия MMP, включая MMP-9, и это связано с деградацией компонентов ЕСМ или накоплением эластического материала [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при сочетанном развитии двух злокачественных патологий – меланомы B16/F10 и карциномы лёгкого Льюис уровень MMP-9 в опухолевых образцах имел положительную корреляцию с объемами первичных узлов. Каким бы ни был уровень MMP-9 в ткани опухоли и ее перифокальной зоне, ясно, что он непосредственно участвует в развитии опухолевой болезни.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Apte S. S., Parks W. C. Metalloproteinases: a parade of functions in matrix biology and an outlook for the future. *Matrix Biol.* 2015;44-46:1–6.
2. Li Y., He J., Wang F., Wang X., Yang F., Zhao C., Feng C., Li T. Role of MMP-9 in epithelial-mesenchymal transition of thyroid cancer. *World journal of surgical oncology.* 2020;18(1):181. doi:10.1186/s12957-020-01958-w.
3. Radisky E. S., Radisky D. C. Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2010;15:201–212. doi:10.1007/s10911-010-9177-x.
4. Santos M. C., de Souza A. P., Gerlach R. F., Trevilatto P. C., Scarel-Caminaga R. M., Line S. R. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *J Oral Rehabil.* 2010;31:660–664. doi:10.1111/j.1365-2842.2004.01297-x.
5. Reinhard S. M., Razak K., Ethell I. M. A delicate balance: role of MMP-9 in brain development and pathophysiology of neurodevelopmental disorders. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:280. doi:10.3389/fncel.2015.00280.
6. Zariffard M. R., Anastos K., French A. L., Munyazesa E., Cohen M., Landay A. L., Spear G. T. Cleavage/alteration of interleukin-8 by matrix metalloproteinase-9 in the female lower genital tract. *PLoS One.* 2015;10:e0116911. doi:10.1371/journal.pone.0116911.
7. Hsu C. C., Huang S. F., Wang J. S., Chu W. K., Nien J. E., Chen W. S., Chow S. E. Interplay of N-cadherin and matrix metalloproteinase 9 enhances human nasopharyngeal carcinoma cell invasion. *BMC Cancer.* 2016;16:800. doi:10.1186/s12885-016-2846-4.

8. Pujada A., Walter L., Patel A., Bui T. A., Zhang Z., Zhang Y., Denning T. L., Garg P. Matrix metalloproteinase MMP-9 maintains epithelial barrier function and preserves mucosal lining in colitis associated cancer. *Oncotarget*. 2017;8:94650–94665. doi:10.18632/oncotarget.21841.

9. Pego E. R., Fernández I., Núñez M. J. Molecular basis of the effect of MMP-9 on the prostate bone metastasis: a review. *Urol Oncol*. 2018;36:S1078143918300851. doi:10.1016/j.urolonc.2018.03.009.

10. Leifler K. S., Svensson S., Abrahamsson A., Bendrik C., Robertson J., Gaudie J., Olsson A. K., Dabrosin C. Inflammation induced by MMP-9 enhances tumor regression of experimental breast cancer. *Journal of immunology*. 2013;190(8):4420–4430. doi:10.4049/jimmunol.1202610.

11. Coussens L. M., Tinkle C. L., Hanahan D., Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell*. 2000;103(3):481–490. doi:10.1016/s0092-8674(00)00139-2.

12. Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010;141(1):52–67. doi:10.1016/j.cell.2010.03.015.

13. Кит О. И., Франциянц Е. М., Никипелова Е. А., Комарова Е. Ф., Козлова Л. С., Таварян И. С., Аверкин М. А., Черярина Н. Д. Изменения маркеров пролиферации, неоангиогенеза и системы активации плазминогена в ткани рака прямой кишки. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015;2(114):40-45.

14. Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Шатова Ю. С., Комарова Е. Ф., Верескунова М. И., Кучкина Л. П. Уровень половых гормонов и пролактина в ткани злокачественных опухолей молочной железы у больных разного возраста. *Фундаментальные исследования*. 2013;7-3:560-564.

15. Decock J., Thirkettle S., Wagstaff L., Edwards D. R. Matrix metalloproteinases: protective roles in cancer. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2011;15(6):1254–1265. doi:10.1111/j.1582-4934.2011.01302.x.

16. Hamano Y., Zeisberg M., Sugimoto H., Lively J. C., Maeshima Y., Yang C., Hynes R. O., Werb Z., Sudhakar A., Kalluri R. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via alphaV beta3 integrin. *Cancer cell*. 2003;3(6):589–601. doi:10.1016/s1535-6108(03)00133-8.

17. Michopoulou A., Montmasson M., Garnier C., Lambert E., Dayan G., Rousselle P. A novel mechanism in wound healing: Laminin 332 drives MMP9/14 activity by recruiting syndecan-1 and CD44. *Matrix Biol*. 2020;94:1-17. doi:10.1016/j.matbio.2020.06.004.

18. Mora Huertas A. C., Schmelzer C. E., Hoehenwarter W., Heyroth F., Heinz A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie*. 2016;128-129:163-173. doi:10.1016/j.biochi.2016.08.010.

REFERENCES

1. Apte S. S., Parks W. C. Metalloproteinases: a parade of functions in matrix biology and an outlook for the future. *Matrix Biol*. 2015;44-46:1–6.

2. Li Y., He J., Wang F., Wang X., Yang F., Zhao C., Feng C., Li T. Role of MMP-9 in epithelial-mesenchymal transition of thyroid cancer. *World journal of surgical oncology*. 2020;18(1):181. doi:10.1186/s12957-020-01958-w.

3. Radisky E. S., Radisky D. C. Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2010;15:201–212. doi:10.1007/s10911-010-9177-x.

4. Santos M. C., de Souza A. P., Gerlach R. F., Trevilatto P. C., Scarel-Caminaga R. M., Line S. R. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *J Oral Rehabil*. 2010;31:660–664. doi:10.1111/j.1365-2842.2004.01297-x.

5. Reinhard S. M., Razak K., Ethell I. M. A delicate balance: role of MMP-9 in brain development and pathophysiology of neurodevelopmental disorders. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:280. doi:10.3389/fncel.2015.00280.

6. Zariffard M. R., Anastos K., French A. L., Munyazesa E., Cohen M., Landay A. L., Spear G. T. Cleavage/alteration of interleukin-8 by matrix metalloproteinase-9 in the female lower genital tract. *PLoS One*. 2015;10:e0116911. doi:10.1371/journal.pone.0116911.

7. Hsu C. C., Huang S. F., Wang J. S., Chu W. K., Nien J. E., Chen W. S., Chow S. E. Interplay of N-cadherin and matrix metalloproteinase 9 enhances human nasopharyngeal carcinoma cell invasion. *BMC Cancer*. 2016;16:800. doi:10.1186/s12885-016-2846-4.

8. Pujada A., Walter L., Patel A., Bui T.A., Zhang Z., Zhang Y., Denning T. L., Garg P. Matrix metalloproteinase MMP9 maintains epithelial barrier function and preserves mucosal lining in colitis associated cancer. *Oncotarget*. 2017;8:94650–94665. doi:10.18632/oncotarget.21841.

9. Pego E. R., Fernández I., Núñez M. J. Molecular basis of the effect of MMP-9 on the prostate bone metastasis: a review. *Urol Oncol*. 2018;36:S1078143918300851. doi:10.1016/j.urolonc.2018.03.009.

10. Leifler K. S., Svensson S., Abrahamsson A., Bendrik C., Robertson J., Gaudie J., Olsson A. K., Dabrosin C. Inflammation induced by MMP-9 enhances tumor regression of experimental breast cancer. *Journal of immunology*. 2013;190(8):4420–4430. doi:10.4049/jimmunol.1202610.

11. Coussens L. M., Tinkle C. L., Hanahan D., Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell*. 2000;103(3):481–490. doi:10.1016/s0092-8674(00)00139-2.

12. Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010;141(1):52–67. doi:10.1016/j.cell.2010.03.015.

1. Kit O. I., Franciyanc E. M., Nikipelova E. A., Komarova E. F., Kozlova L. S., Tavaryan I. S., Averkin M. A., Cheryarina N. D. Changes in markers of proliferation, neoangiogenesis, and the plasminogen activation system in rectal cancer tissue. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2015;2(114):40-45. (In Russ).
 2. Kit O. I., Franciyanc E. M., Bandovkina V. A., Shatova Yu. S., Komarova E. F., Vereskunova M. I., Kuchkina L. P. The level of sex hormones and prolactin in the tissue of malignant breast tumors in patients of different ages. *Basic research*. 2013;7-3:560-564. (In Russ).
 3. Decock J., Thirkettle S., Wagstaff L., Edwards D. R. Matrix metalloproteinases: protective roles in cancer. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2011;15(6):1254–1265. doi:10.1111/j.1582-4934.2011.01302.x.
 4. Hamano Y., Zeisberg M., Sugimoto H., Lively J. C., Maeshima Y., Yang C., Hynes R. O., Werb Z., Sudhakar A., Kalluri R. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via alphaV beta3 integrin. *Cancer cell*. 2003;3(6):589–601. doi:10.1016/s1535-6108(03)00133-8.
 5. Michopoulou A., Montmasson M., Garnier C., Lambert E., Dayan G., Rousselle P. A novel mechanism in wound healing: Laminin 332 drives MMP-9/14 activity by recruiting syndecan-1 and CD44. *Matrix Biol*. 2020;94:1-17. doi:10.1016/j.matbio.2020.06.004.
 6. Mora Huertas A. C., Schmelzer C. E., Hoehenwarter W., Heyroth F., Heinz A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie*. 2016;128-129:163-173. doi:10.1016/j.biochi.2016.08.010.

