

Кит О.И., Шевченко А.Н., Комарова Е.Ф., Пакус Д.И., Максимов А.Ю.

Влияние сопряжения полиморфизма генов матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов с активностью внеклеточного протеолиза компонентов базальной мембраны на раннее рецидивирование у больных поверхностным раком мочевого пузыря

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Kit O.I., Shevchenko A.N., Komarova E.F., Pakus D.I., Maksimov A.Ju.

Effect of conjugation matrix metalloproteinase genes polymorphism and their tissue inhibitors with the activity of extracellular proteolysis basement membrane components at early recurrence in patients with superficial bladder cancer

Резюме

В статье изучено сопряжение полиморфизма генов матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов с активностью внеклеточного протеолиза компонентов базальной мембраны на раннее рецидивирование у больных поверхностным раком мочевого пузыря (РМП). Исследовали периферическую кровь и биопсийный материал, полученный у 37 пациентов с переходноклеточным РМП в стадиях TaNOM0 и T1NOM0 умеренного (G2) и высокого (G1) уровня дифференцировки. Пациенты были разделены на две группы в соответствии с отсутствием или наличием раннего рецидивирования в течение 3-12 мес. после первичного хирургического лечения. Установлено, что относительный риск развития поверхностного РМП сопряжен со снижением частоты полиморфизма 1G/1G гена MMP1 (rs1799750) и повышением частоты полиморфизма по типу C/T в гене MMP9 (rs3918242). Риск раннего рецидивирования РМП ассоциирован с повышением частоты полиморфизма «-1607 2G/1G» гена MMP1 (rs1799750) и «-1562 C/T» гена MMP9 (rs3918242), позитивной экспрессией цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани. Наличие генетического полиморфизма гена MMP9 по типу C/T в позиции «-1562 C/T» и экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани усиливают пре-дикторную значимость для прогнозирования раннего рецидивирования РМП.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, внеклеточный протеолиз, матриксные металлопротеиназы, ламинин, рецидив

Summary

The article studied the pairing genes polymorphism of matrix metalloproteinase and its tissue inhibitors with the activity of extracellular proteolysis basement membrane components at early recurrence in patients with superficial bladder cancer (BC). Explored the peripheral blood and biopsy is a multistage material received from 37 patients with BC in stages TaNOM0 and T1NOM0 moderate (G2) and high (G1) level of differentiation. Patients were divided into two groups in accordance with the absence or presence of early recurrence within 3-12 months after primary surgical treatment. Found that the relative risk of superficial BC has reduced rates of polymorphism 1G/1G MMP1 gene (rs1799750) and increased frequency polymorphism on type C/T in the MMP9 (rs3918242). Risk of early recurrence of BC is associated with increasing frequency polymorphism «-1607 2G/1G» MMP1 gene (rs1799750) and «-1562 C/T» MMP9 gene (rs3918242), positive expression of $\gamma 2$ chain laminin 5 in tumor tissue. The existence of genetic polymorphism of MMP9 of type C/T in position «-1562 C/T» and $\gamma 2$ laminin 5 chain expression in tumor tissue increase predictor significance for early prediction of the recurrence of the BC.

Key words: bladder cancer, extracellular proteolysis, matrix metalloproteinases, laminin, relapse

Введение

Уротелиальный рак мочевого пузыря (РМП) является частой онкологической патологией с ежегодной заболеваемостью в России 12,5 тыс. человек [4], в связи с чем представляет собой значимую социальную проблему. В большинстве случаев (70–80%) переходноклеточный РМП диагностируют на неинвазивных стадиях [10]. 30–85% «поверхностных» опухолей рецидивируют после проведенного лечения, причем 10–30% прогрессируют в инвазивные и метастатические карциномы. Остальные 20–30% новообразований характеризуются инфильтративным ростом уже на стадии выявления заболевания [6, 11].

В настоящее время выбор метода лечения и прогнозирование дальнейшего течения РМП базируются на его принадлежности к определенной классификационной категории по системам TNM и G. Эти признаки являются ведущими, так как определяют распространение злокачественного процесса и позволяют косвенно судить о его вероятной агрессивности. В то же время отдаленные результаты лечения больных, относящихся к одним и тем же классификационным подгруппам и получавших одинаковое лечение, существенно различаются. Таким образом, для полноценного прогнозирования при РМП необходима дополнительная информация о свойствах опухоли [1,2,15], то есть, кроме стадии, степени дифференцировки, гистологического варианта, следует брать во внимание индивидуальные факторы, определяющие клиническое поведение и биологическую агрессивность новообразования.

Сегодня общепризнано, что при возникновении рака генетические изменения играют весомую роль. Опухолевые клетки появляются благодаря накоплению мутаций в критичных протоонкогенах и генах-супрессорах опухолевого роста. В соответствии с центральной догмой молекулярной биологии, реализация наследственной информации осуществляется в цепи ДНК→РНК→белок. Множественные же изменения в геноме при онкогенезе приводят к нарушению многочисленных внутриклеточных процессов, накладывающихся друг на друга, что проявляется формированием нового, «опухолевого», фенотипа с рядом характерных признаков, лежащих в основе типирования опухолей. Следует также отметить, что генетические нарушения, приводящие к возникновению опухоли, сопровождаются изменениями молекулярных сигнальных каскадов, являющихся в определенной степени специфическими для каждой конкретной опухоли и привносящих уникальные дополнения к общим механизмам опухолевого роста [16]. Теория Н.Г. Хлопина о дивергенции в гистогенезе объясняет многообразие гистологических типов уротелиальных опухолей [7]. При ее экстраполяции на онкогенез становится понятным разнообразие приобретаемых опухолями новых и/или утраты признаков исходной ткани, ее отличие от исходной ткани и подобие опухолям других гистогенетических типов. В предрасположенности к РМП существенную роль играют не столько мутации, сколько нормальные вариации геномного набора [20].

В настоящее время большое внимание уделяется специфическим мат-риксным металлопротеазам (ММП) из класса внеклеточных эндопротеаз, гиперэкспрессируемых во многих злокачественных новообразованиях [8,14] и способствующих опухолевой инвазии сквозь внеклеточный матрикс [13]. Данные по экспрессии и клиническому значению ММП, а также их тканевых ингибиторов (ТИМ) при РМП не многочисленны и противоречивы. В одних работах показана корреляция степени экспрессии ММП со стадией процесса, однако связи со степенью дифференцировки не выявлено [3]. В других — установлена связь экспрессии ММП-2 и ММП-9 со стадией и степенью дифференцировки, но отмечено, что их роль в метастатическом потенциале опухоли нуждается в дальнейшем изучении [12,19]. При РМП повышается уровень ММП в моче (ММП-2 и ММП-9) [5,20]. Сопоставление ММП-3 и ММП-1 продемонстрировало статистически достоверную связь гиперэкспрессии ММП-1 с высокой агрессивностью и низкой дифференцировкой уротелиальной карциномы [12,18].

Для уротелиальных карцином, как и для других новообразований, характерно уменьшение или полная утрата клетками адгезивных свойств, сопровождаемая нарушением системы передачи межклеточных сигналов, изменением свойств прилежащих мезенхимальных клеток, разрушением базальной мембраны [9,21]. При РМП одновременно с дегградацией базальных мембран происходит накопление ламинина в строме опухоли, а экспрессия ламинина-5 выявляется достоверно выше в инвазивных опухолях, чем в неинвазивных. Данные изменения связывают с неблагоприятным прогнозом уротелиальной карциномы и высоким риском развития рецидивов поверхностного РМП [3]. Целью нашей работы явилось изучить влияние сопряжения полиморфизма генов матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов с активностью внеклеточного протеолиза компонентов базальной мембраны на раннее рецидивирование у больных поверхностным раком мочевого пузыря.

Материалы и методы

Исследовали периферическую кровь и биопсийный материал, полученный у 37 пациентов с переходноклеточным раком мочевого пузыря в стадиях TaN0M0 и T1N0M0 умеренного (G2) и высокого (G1) уровня дифференцировки. Пациенты были разделены на две группы в соответствие с отсутствием (1 группа, n=19) или наличием (2 группа, n=18) раннего рецидивирования в течение 3-12 мес. после первичного хирургического лечения. Первичное хирургическое лечение было проведено в объеме трансуретральной резекции мочевого пузыря с последующей стандартной внутрипузырной химиотерапией. Контрольная группа была представлена 34 пациентами мужского пола (средний возраст 65,2±2,7 лет) с доброкачественной гиперплазией предстательной железы, у которых биоптаты получены во время трансуретральной резекции предстательной железы из области шейки мочевого пузыря. В 1 группе мужчин было 15 (78,9%), женщин — 4 (21,1%). Средний возраст больных 1 группы

Таблица 1.

Ген	Однонуклеотидный полиморфизм, база данных	Аллели	Регион	Позиция нуклеотидов
ММП1	rs1799750	2G/1G	Промоутер	-1607 2G/1G
ММП2	rs243865	С/Т	Промоутер	-1306 С/Т
ММП9	rs3918242	С/Т	Промоутер	-1562 С/Т
ТИМ1	rs2070584	Г/Т	Инtron	Г/Т

Таблица 2. Частота однонуклеотидных замен в генах ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ТИМ-1 у больных поверхностным РМП и в контрольной группе

Ген	Генотип	Контрольная группа (n=34)		Больные РМП (n=37)		ОР	p
		абс.	%	абс.	%		
ММП1	2G/2G	9	26,5	15	40,5	1,53	0,21
	1G/1G	4	11,8	8	21,6	1,84	0,27
	2G/1G	21	61,8	14	37,8	0,62	0,04
	2G/1G+1G/1G	25	73,5	22	59,5	0,7	0,01
ММП2	С/С	19	55,9	21	56,8	1,02	0,94
	С/Т	12	35,3	13	35,1	1,0	0,99
	Т/Т	3	8,8	3	8,1	0,92	0,91
	С/Т+Т/Т	15	44,1	16	43,2	0,98	0,94
ММП9	С/С	19	55,9	16	43,2	0,77	0,29
	С/Т	9	26,5	18	48,6	1,84	0,05
	Т/Т	6	17,6	3	8,1	0,46	0,23
	С/Т+Т/Т	15	44,1	21	56,8	1,29	0,29
ТИМ1 (муж.)	Г	18	52,9	19	51,4	0,97	0,89
	Т	16	47,1	18	48,6	1,03	0,89

составил 62,4±3,4 года. Во 2 группе пациентов мужского пола было 16 (84,2%), женщин – 3 (15,8%). Средний возраст пациентов 2 группы соответствовал 63,9±3,6 года.

Детекцию однонуклеотидных замен в генах ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ТИМ-1 оценивали методом ПЦР в реальном времени. При этом использовали резонансное тушение флуоресценции в TaqMan системе. Характеристика изучаемого полиморфизма факторов эндогенного внеклеточного протеолиза отражена в таблице 1.

Для проведения морфологического исследования использовали пара-финовые блоки операционного и биопсийного материала. Парафиновые срезы толщиной 4-6 мкм наносили на адгезивные предметные стекла SuperFrost Plus, депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. «Демаскировку» антигенов проводили в PT-Link Thermo. Протокол включал в себя предварительный нагрев до 65°C, восстановление антигена в течение 20 минут при температуре 97°C и дальнейшее охлаждение до 65°C. Затем стекла промывались в течение 1-3 минут TBS-буфером (Dako) и помещались в автоматизированную систему для окрашивания в автоматическом режиме. С целью оценки экспрессии ламинина 5 были использованы мышиные моноклональные антитела анти-ламинин 5 (γ2 цепь) (1/50 разведение, Chemicon, Temecula, CA, USA) для обработки срезов во влажных камерах при температуре 23-25°C в течение 30 минут. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали систему детекции Reveal Polyvalent HRP-

DAB Detection System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, для заключения использовали бальзам Bio-Mount. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением x10, x20, x40. В исследовании применяли следующие критерии оценки маркера: 1) опухоль считали отрицательной по цепочке γ2 ламинина 5, если в ткани отсутствовала реакция с антителами или количество окрашенных клеток было менее 10%, и положительной, если было цитоплазматическое окрашивание 10% и более опухолевых клеток. Качественные показатели экспрессии маркеров изучали как минимум на 10 случайно выбранных полях зрения микроскопа гистологических срезов.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft) и применением методов многофакторного дисперсионного анализа, расчета относительного риска (ОР) события, составления таблиц сопряженности и определения достоверного различия между долями по тесту Фишера.

Результаты и обсуждения

Частота однонуклеотидных замен в генах ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ТИМ-1 у больных поверхностным РМП и в контрольной группе представлена в таблице 2.

У больных РМП по сравнению с контрольной группой для ММП1 (rs1799750) 2G/1G+1G/1G генотип встречался достоверно реже (59,5% против 73,5%) за счет сни-

Таблица 3. Частота однонуклеотидных замен в генах ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ТИМ-1 у больных поверхностным РМП в зависимости от раннего рецидивирования опухоли

Ген	Генотип	1 группа (n=19 (без рецидива))		2 группа (n=18 (ранние рецидивы))		p
		абс.	%	абс.	%	
ММП1	2G/2G	10	52,6	5	27,8	0,12
	1G/1G	5	26,3	3	16,7	0,47
	2G/1G	4	21,1	10	55,6	0,03
	2G/1G+1G/1G	9	47,4	13	72,2	0,12
ММП2	C/C	11	57,9	10	55,6	0,88
	C/T	6	31,6	7	38,9	0,64
	T/T	1	5,3	2	11,1	0,51
	C/T+T/T	7	36,8	9	50,0	0,42
ММП9	C/C	9	47,4	7	38,9	0,60
	C/T	6	31,6	12	66,7	0,03
	T/T	2	10,5	1	5,6	0,58
	C/T+T/T	5	26,3	16	88,9	0,0001
ТИМ1 (муж.)	G	10	52,6	9	50,0	0,87
	T	9	47,4	9	50,0	0,87

Таблица 4. Сопряжение генетического полиморфизма гена ММП1 по типу 2G/1G в позиции -1607 2G/1G и экспрессии цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани

Алель 2G/1G гена ММП1	Экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани		p
	Позитивная	Негативная	
Присутствует (n=14)	11 (55%)	3 (17,6%)	0,039
Отсутствует (n=23)	9 (45%)	14 (82,4%)	
Всего (n=37)	20 (100%)	17 (100%)	

Таблица 5. Сопряжение генетического полиморфизма гена ММП9 по типу C/T в позиции -1562 C/T и экспрессии цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани

Алель C/T гена ММП9	Экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани		p
	Позитивная	Негативная	
Присутствует (n=18)	16 (80%)	3 (17,6%)	0,0002
Отсутствует (n=19)	4 (20%)	14 (82,4%)	
Всего (n=37)	20 (100%)	17 (100%)	

жения частоты генотипа 2G/1G (37,8% против 61,8%). Для ММП9 (rs3918242) генотип C/T встречался чаще у пациентов с РМП по сравнению с контролем (48,6% против 26,5%). Полиморфизм по гену ММП2 и ТИМ1 не был ассоциирован с высоким риском развития РМП.

Свое название матриксные металлопротеиназы получили за способность специфически гидролизовать основные белки экстраклеточного мат-рикса. В норме существует биологический механизм ограничения протеолиза тканей, вызванного активными ММП, в виде секреции клетками стромы тканевых ингибиторов металлопротеаз. Это белки небольшого размера, способные формировать нековалентные комплексы со многими членами семейства матриксных металлопротеаз [17]. ММП1 относится к группе коллагеназ, ММП-2 и ММП-9 к желатиназам. Представители этих подсемейств инициируют инвазивные процессы, так как базальные мембраны состоят из коллагена IV типа, а экстраклеточный матрикс представлен в основном фибриллярными коллагенами I-III типов. ММП-9 (желатиназа В) в здоровых растущих и регенерирующих тканях играет ведущую роль в ангио-

генезе, растворяя стромальные элементы, она тем самым прокладывает путь для растущих капилляров [13,14].

Учет раннего рецидивирования внес изменения в сложившийся спектр генетического полиморфизма у пациентов с РМП. У больных с ранним рецидивированием опухоли чаще встречался ММП1 -1607 2G/1G (rs1799750), а также ММП9 -1562 C/T (rs3918242) полиморфизм (табл. 3).

Позитивная экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани у больных поверхностным РМП встречалась у 20 (54%) больных. Ламинин обеспечивает взаимодействие клеток с базальной мембраной. Нарушение базальных взаимодействий ведет к нарушениям клеточной адгезии, что, возможно, способствует приобретению клетками способности к активной миграции и инвазии. У больных 2 группы с ранними рецидивами опухоли позитивная экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани наблюдалась чаще по сравнению с 1 группой (72,2% против 36,8%, p=0,03).

Результаты изучения сочетанного выявления двух признаков - поли-морфизма по генам ММП1 и ММП9 в

периферической крови, а также позитивной экспрессии цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани представлены в таблицах 4 и 5.

Вклад особенностей генетического полиморфизма и экспрессии цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани (по отдельности и совместное влияние) оценивали по результатам многофакторного анализа MANOVA. В результате сопоставления факторной и остаточной дисперсии было установлено, что генетический полиморфизм гена ММП1 по типу 2G/1G в позиции -1607 2G/1G ($p=0,031$) и экспрессия ламинина в опухолевой ткани ($p=0,027$) по отдельности были статистически значимо сопряжены с ранним рецидивированием РМП, но совместный эффект присутствия этих факторов не сопровождался повышением значимости совокупности признаков для развития ранних рецидивов опухоли. Напротив, одновременное наличие генетического полиморфизма гена ММП9 по типу С/Т в позиции -1562 С/Т ($p=0,02$) и экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани ($p=0,017$) усиливали свою предикторную значимость для развития раннего рецидивирования РМП. Ассоциация этих двух признаков сопровождалась значительным ростом отношения факторной и остаточной дисперсии, соответствующий уровень доверительной вероятности был менее 0,0001 ($p<0,0001$). Следовательно, наличие двух предикторов имело большее информационное значение, чем каждый предиктор по отдельности.

Выводы

1. Относительный риск развития поверхностного РМП сопряжен со снижением частоты полиморфизма 1G/1G гена ММП1 (rs1799750) и повышением частоты

полиморфизма по типу С/Т в гене ММП9 (rs3918242).

2. Риск раннего рецидивирования РМП ассоциирован с повышением частоты полиморфизма «-1607 2G/1G» гена ММП1 (rs1799750) и «-1562 С/Т» гена ММП9 (rs3918242), позитивной экспрессией цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани.

3. Наличие генетического полиморфизма гена ММП9 по типу С/Т в позиции «-1562 С/Т» и экспрессия цепи $\gamma 2$ ламинина 5 в опухолевой ткани усиливают предикторную

Кит О.И. – доктор медицинских наук, профессор, Директор ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону; *Шевченко А.И.* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением онкоурологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Комарова Е.Ф.* – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник гормональной лаборатории ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону. *Пакус Д.И.* – врач урологического отделения ГБУ РО «Областная клиническая больница №2», Ростов-на-Дону. *Максимов А.Ю.* – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научным перспективным разработкам ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону. Автор, ответственный за переписку – Пакус Дмитрий Игоревич, 344029 г. Ростов-на-Дону, ул. 1-й Конной Армии, 33. Тел. (863)2520758, E-mail: alald@inbox.ru

Литература:

1. Глыбочко П.В., Понукалин А.Н., Шахпазян Н.К. и др. Значение маркеров опухолевого роста и ангиогенеза в диагностике рака мочевого пузыря. // *Онкоурология*. □ 2009. □ №2. □ С.56–60.
2. Казан О.Ф., Казаров Р.Л., Казаров Л.Р. и др. Опыт проведения трансуретральной биопсии в раннем послеоперационном периоде у больных поверхностным раком мочевого пузыря. // *Онкоурология*. □ 2009. □ №2. □ С.48–51.
3. Полищук Л.А., Телегеева П.Г., Стаховский А.Э. и др. Новые специфичные молекулярные диагностические маркеры при онкоурологических заболеваниях. // *Лабораторная диагностика*. □ 2010. □ Т.54. □ № 4. □ С.46–51.
4. Пряничникова М.Б. Современные гипотезы возникновения рака мочевого пузыря // *Урология*. □ 2014. □ N 1. □ С.88–91.
5. Сивков А.В., Рошин Д.А., Перепечин Д.В., Никонова Л.М., По-ложенцева М.О. Молекулярно-генетические маркеры рака мочевого пузыря в клинической практике. // *Экспериментальная и клиническая урология*. □ 2013. □ N 3. □ С.48–54.
6. Ситдыкова М.Э., Зубков А.Ю., Нуриев И.Р. Органо-сохраняющее лечение инвазивного рака мочевого пузыря // *Казанский медицинский журнал*. □ 2013. □ N 4. □ С.501–505.
7. Хлопин Н.Г. Общепатологические и экспериментальные основы гистологии. □ 1964. М.: Изд-во АН СССР –468 с.
8. Escaff S., Fernandez J.M., Gonzales A. et al. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in prostate cancer. // *British Journal of Cancer*. □ 2010. – Vol.102. □ P.922–929.
9. Gocheva V., Joyce J.A. Cysteine cathepsins and cutting edge of cancer invasion. // *Cell Cycle*. □ 2007. □ Vol.6(1) . □ P.60–64.
10. Jemal A., Bray F., Center M.M. Global Cancer Statistics, 2011. // *Cancer J. Clin.* □ 2011. □ Vol. 61. □ P.69–90.
11. Lee Ch.T., Wood D.P. Bladder cancer: Diagnosis, Therapeutics and Management. □ 2010. Ed. Humana Press: 313 p.
12. Magali V.S., Ruth O., Francis F. et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase detection in tumors. using the Iodinated endogenous tissue inhibitor 2

- of metalloproteinases as imaging agent. // Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals. □2010. □Vol.56. □P.511–520.*
13. *Mannello F., Luchetti F., Falcieri E. et al. Multiple roles of matrix metalloproteinases during apoptosis. // Apoptosis. □2005. □Vol.10. □P.19–24.*
 14. *Mannello F., Tonti G., Papa S. Matrix metalloproteinase inhibitors as targets of anticancer therapeutics. // Curr. Cancer Drug Targets. □2005. □N5. □P.285–298.*
 15. *Montironi R., Lopez-Beltran A. The 2004 WHO classification of bladder tumors: a summary and commentary. // J. Surg. Pathol. □2005. □Vol.13. □№2. □P.143–153.*
 16. *Petricoin E.F., Bichsel V.E., Calvert V.S. et al. Mapping molecular networks using proteomics: a vision for patient-tailored combination therapy. // Biochim. Biophys. Acta. □2005. □Vol.23. □P.3614–3621.*
 17. *Reis S.T., Leite K.R., Piovesan L.F., Pontes-Junior J. et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer // BMC Urology. □2012. □Vol.12. □P.18–25.*
 18. *Seargent J.M., Loadman P.M., Martin S.W. et al. Expression of matrix metalloproteinase-10 in human bladder transitional cell carcinoma. // Urology. □2005. □Vol.65. □N4. □P.815–820.*
 19. *Shimizu Y., Kondo S., Shirai A. et al. (2008) A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 gene promoter predicts poor prognosis in tongue cancer. // Auris Nasus Larynx. □2008. □Vol.35. □P. 381–389.*
 20. *Singh H., Jain M., Mittal B. MMP-7-(-181A>G) promoter polymorphisms and risk for cervical cancer. // Gynecol. Oncol. □2008. □Vol.110. □N1. □P.71–75.*
 21. *Tena-Suck M.L., Alarcon A., Rosl F. et al. (2010) E-cadherin expression in male urethral smears and correlation with PCR-based detection of human papillomavirus infection. // Diagnostic Cytopathology. □2010. □Vol.38. □N8. □P.83–89.*